

Aus der Klinik und Poliklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Kopf- und
Halschirurgie "Otto Körner" der Medizinischen Fakultät der Universität
Rostock

Direktor: Prof. Dr.med.habil. Hans Wilhelm Pau

Inhibitorische Wirkung ausgesuchter Pharmaka auf das Wachstum von Fibroblasten der Nasenschleimhaut.

Inauguraldissertation
zur
Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Rostock

vorgelegt von
Simone Maria Kolloczek geboren in Hamburg
aus Zürich
Rostock 30.07.2012

Dekan
Prof. Dr. med. Emil Christian Reisinger

Dekan

Herr Prof. Dr. med. Emil Christian Reisinger

1. Gutachter: Herr Prof. Dr. med. Burkhard Kramp

HNO Klinik „Otto Körner“ der Universitätsmedizin Rostock

Doberaner Strasse 137/139, 18057 Rostock

2. Gutachter: Herr Prof. Dr. med. Bernd Drewelow

Dir. des Institutes für Klinische Pharmakologie der Universitätsmedizin Rostock

Schillingallee 70, 18057 Rostock

3. Gutachter: Herr Prof. Dr. med. Dr. h.c. Thomas Zahnert

Universitätsklinikum Carl Gustav Carus Dresden

HNO-Klinik

Fetscherstrasse 74, 01307 Dresden

Einreichdatum: 24.09.2012

Verteidigungsdatum: 22.05.2013

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung: Polyposis nasi	5
1.1 Pathogenese	5
1.2 Pathobiochemie	7
1.2.1 Polyposis und Allergie.....	9
1.2.2 Polyposis und Analgetika-Intoleranz.....	10
1.3 Diagnostik.....	11
1.4 Therapie-Optionen.....	12
1.4.1 Konservative Therapieformen	12
1.4.2 Operative Therapie	14
1.4.3 Rezidivprophylaxe.....	16
1.4.4 alternative Therapieansätze	17
2. Fragestellung.....	18
3. Methodik	19
3.1 Herkunft und Gewinnung der Fibroblasten	19
3.2 Zellkultur	20
3.3 Flowzytometrische Analyse der Fibroblastenkulturen	20
3.4 Protokoll 3H-Thy-Proliferationsansatz.....	21
3.5 Verwendete Medikamente	23
4. Ergebnisse	31
4.1 Ergebnisse der Flowzytometrischen Analyse der Fibroblastenkulturen.....	31
4.2 Medikamente	33
4.2.1 Timolol	33
4.2.2 Pilocarpin.....	34
4.2.3 Piroxicam.....	35
4.2.4 Verapamil	36
4.2.5 Pentoxifyllin.....	37
4.2.6 Prednisolon	38
4.2.7 Methylprednisolon.....	39
4.2.8 Dexamethason	40
4.2.9 Hydrocortison	41
4.2.10 Momethason	42

4.2.11 Gesamtübersicht der Wirkstoffe	43
5. Diskussion.....	45
6. Zusammenfassung	57
7. Thesen	59
8. Tabellenanhang.....	62
9. Literaturverzeichnis	68
10. Selbstständigkeitserklärung.....	76
11. Danksagung	77
12. Lebenslauf.....	78

1. Einleitung: Polyposis nasi

1.1 Pathogenese

Die Polyposis nasi zählt zu den häufigsten raumfordernden Läsionen im Nasennebenhöhlensystem. Sie tritt mit einer Häufigkeit von 4 % in der Bevölkerung [7], unabhängig von Geschlecht (m:f; 2:1), Alter und Sozialstatus [1] auf. Ihr Altersgipfel liegt in der dritten bis vierten Lebensdekade, bei Kindern kommt sie nur selten vor.

Patienten klagen neben den typischen Beschwerden einer chronischen Sinusitis, wie eitrighe Rhinorrhoe und postnasale Sekretion, über Ventilationsstörungen. In 76% der Fälle klagen die Patienten auch über Hyposmie oder sogar Anosmie [4, 26]. Durch den Sekretfluß in den Nasen-Rachen-Raum kann Räusperzwang und Schnarchen verursacht werden. Deutlich seltener jedoch als bei Patienten mit chronischer Sinusitis, kommt es zu heftigen Kopfschmerzen oder Heiserkeit.

Häufig sind die Polypen eosinophil-entzündlicher Genese und entstehen auf dem Boden einer chronischen Rhinosinusitis (vermehrt allergischen Ursprungs [3]) oder sind mit ihr vergesellschaftet und somit Symptom einer chronischen Sinusitis. Oft jedoch ist die Polyposis nasi multifaktoriell bedingt [2], wobei die Pathogenese bis heute weitgehend unbekannt ist. Es konnte auch eine Assoziation mit verschiedenen anderen Atemwegserkrankungen, wie allergische Erkrankungen, Aspirinsensitivität (52%), Asthma bronchiale (32%) oder auch cystische Fibrose bei Kindern (10%) gezeigt werden [1].

Auf diesen Erkenntnissen beruht die Einteilung der Polypen in verschiedene Gruppen [4]:

- | | |
|-----|--|
| I | Antrochoanal-polyp (in der Regel solitär) |
| II | Choanalpolyp bzw. große isolierte Polypen |
| III | Polypen bei chronischer Rhinosinusitis, nicht eosinophilendominiert |
| IV | Polypen bei chronischer Rhinosinusitis, eosinophilendominiert |
| V | Polypen bei spezifischen Erkrankungen (z.B. Mukoviszidose; nichtinvasive, nichtallergische Pilzsinusitis; Churg-Strauss Syndrom; Malignome) |

Der Antrochoanal-Polyp unterscheidet sich von der Polyposis nasi durch fehlende Eosinophilie und durch die Lokalisation. Er entspringt in der Kieferhöhle und reicht bis in die Nasenhaupthöhle, oft sogar bis in den Nasenrachenraum hinein.

Der Choanalpolyp ist ebenfalls meist einseitig lokalisiert. Er entspringt bevorzugt an den Engstellen der vorderen Siebbeinzellen.

Für Polypen der Gruppe III und IV wurden als Ursprungslokalisation [5,6] die Schleimhaut der mittleren Nasenmuschel sowie des mittleren Nasenganges identifiziert. Die untere Muschel hingegen neigt nicht zur Polypenbildung. Die Gründe hierfür sind nicht bekannt.

Die Polypen der Gruppe V haben eine Sonderstellung, da sie mit spezifischen Krankheiten assoziiert sind.

Polypen entstehen durch Risse oder Nekrosen in der deckenden Epithelschicht oder der Basalmembran, durch Mediatoren oder mechanische Traumatisierung bedingt. Die Lamina propria quillt hervor und bildet das Stroma eines beginnenden Polypen [1, 31]. Dieses prolabierte Gewebe wird von regenerierendem Epithel bedeckt, welches sich zungenartig ausbreitet und zum Teil basal in diese Vorstülpung einwächst. Später werden Drüsen in den Polypen gebildet und das weitere Wachstum der Polypen wird durch inflammatorische Prozesse unterhalten. Polypen werden nicht autonom innerviert [31].

Im Stroma von Polypen können T-Lymphozyten nachgewiesen werden. Dies stützt die These, dass auch eine zellvermittelte Immunreaktion ihren Anteil an der Polypengenesese hat. Es finden sich jedoch widersprüchliche Angaben über die Subtypen der T-Lymphozyten in der Literatur. Im Stroma von Polypen findet man gehäuft CD-4 positive Zellen, diese stehen in ihrem aktivierten Zustand in enger Beziehung zu Mastzellen. In fibrösen Mukosaarealen finden sich überwiegend CD-8 positive Zellen in Polypen. T-Lymphozyten sind außerdem gemeinsam mit Monozyten für die gesteigerte IL-1 Produktion verantwortlich; IL-1 spielt bei chronischer Entzündung eine wichtige Rolle [31]. Diese Fakten weisen daraufhin, dass die Polyposis als Symptom einer chronischen Sinusitis gewertet werden kann.

1.2 Pathobiochemie

Bei der Polypenbildung handelt es sich um eine lokalisierte, mediatorbedingte (Serotonin, Leukotriene, Prostaglandine, Immunglobuline) Schleimhautreaktion der Lamina propria [9]. Wachstum und Formation der Polypen werden über zelluläre Prozesse im Schleimhautepithel, der Matrix und durch Entzündungszellreaktionen getriggert und sowohl von infektiösen als auch von nicht-infektiösen Entzündungen gesteuert, aktiviert und unterhalten. Die Zellstrukturen der Polypen sind mit denen der normalen Nasenschleimhaut identisch.

Die Polyposis nasi schädigt das Epithel durch ein massives Ödem und/oder Fibrose, durch verminderte Vaskularisation und eine geringere Drüsenanzahl [5,10].

Die Polypen bestehen aus einem lockeren bindegewebigen Gerüst aus Fibroblasten [14]. Diese setzen verschiedene Mediatorstoffe frei und sind damit wichtig für die Entstehung und das Wachstum der Polypen. Sie setzen im Vergleich zu Fibroblasten aus normaler Schleimhaut vermehrt Zytokine (GM-CSF, M-CSF, G-CSF) frei [31]. Fibroblasten in Polypengewebe proliferieren im Vergleich zu anderen Fibroblasten stärker und zeigen einen veränderten Metabolismus. Sie synthetisieren weniger Fibronektin und vermehrt Proteoglykane, was die Ödembildung begünstigt [15,16]. Es konnte gezeigt werden, dass Polypen einen höheren Anteil an Fibroblasten besitzen als normale Haut [20].

Das epithelschädigende massive Ödem der Schleimhaut wird durch eine gesteigerte Natriumaufnahme in die Zelle und konsekutiven Wassereinstrom hervorgerufen. Die Natriumaufnahme wird durch das major basic protein (MBP) bewirkt. Dieses ist auch für eine veränderte Epithelarchitektur verantwortlich [19]. Auch die auffällig hohe transepitheliale Potentialdifferenz über das Polypenepithel führt zu einem vermehrten Wasser- und Elektrolyteinstrom und ist somit wichtiger pathogenetischer Faktor für die Polypenbildung [31]. Zur Ödembildung trägt auch der hohe Albumingehalt in Polypengewebe bei; eventuell bedingt durch eosinophile Entzündung, ist er 15 mal höher als in normaler Nasenschleimhaut [21]. Möglicherweise wirken veränderte Komponenten der extrazellulären Matrix als Barriere für die ungehinderte Plasmaextravasation.

Häufig wird nur eine grobe histologische Einteilung der Polypen in eosinophile (bei 65-90% der Patienten zu finden) und neutrophile (15-20%) Polypen vorgenommen [11], da diese beiden Typen in der Praxis am häufigsten anzutreffen sind.

Ihrem Namen nach findet man in eosinophilen Polypen erhöhte Zahlen an eosinophilen Granulozyten. Die Eosinophilie an sich ist nicht schädlich. Auch in der Schleimhaut Gesunder werden inaktive eosinophile Zellen beobachtet. In den Polypen hingegen sind die Zellen überwiegend aktiviert und exprimieren regulatorische und inflammatorische Zytokine (IL-3, IL-5, GM-CSF, TGF) [31].

Die Eosinophilie des Gewebes entsteht durch transendotheliale Migration von Entzündungszellen und Apoptoseinhibition der Granulozyten. Dies wird durch IL-3, IL-5 und GM-CSF vermittelt. IL-5 wird von Eosinophilen selbst synthetisiert und kann ihre Überlebenszeit verlängern [17]. Eosinophile aktivieren zytokinvermittelt weitere Eosinophile und initiieren somit einen sich selbst unterhaltenen Circulus vitiosus der Entzündung.

Sie können auch über die Synthese von Transforming growth factor (TGF- β) ihre eigene Migration in das Polypengewebe beeinflussen, indem sie die Fibroblastenfunktion regulieren. TGF- β ist ein wichtiges Zytokin für die Induktion der Fibroblastenproliferation, die Signaltransduktion verläuft über IL-4, Lipopolysaccharide (Bakterienprodukte) und Eotaxin [22].

Nasale Fibroblasten können durch die Freisetzung von Chemokinen, wie zum Beispiel RANTES (regulated and normal T cell expressed and presumably secreted), Eotaxin und GM-CSF (granulocyte/macrophage colony-stimulating factor) in die Rekrutierung und Aktivierung eosinophiler Granulozyten eingreifen [12,13,18].

Ausserdem wird durch RANTES, induziert von Eosinophilen, das toxische eosinophile kationische Protein (ECP) freigesetzt, welches zu weiteren Epithelschäden führt und somit die Entzündung weiter unterhält.

1.2.1 Polyposis und Allergie

Vergleichende Untersuchungen haben gezeigt, dass die allergische Genese als Ursache der Entwicklung einer Polyposis nasi auszuschließen ist. Allerdings kann es durch die behinderte Nasenatmung sekundär zu einer Sensibilisierung für bestimmte Antigene kommen. [8]

Bei Allergikern treten Nasenpolypen seltener auf als bei der Normalbevölkerung (Prävalenz der Polypen unter 5%; Die Allergieprävalenz in der Bevölkerung liegt bei ca. 15%) [2]. Dies spricht ebenfalls gegen die fördernde Rolle einer inhalativen Allergie. Spezifische IgG und IgE –Antikörper werden bei der Polyposis nasi als Ausdruck einer lokal begrenzten Entzündung gebildet.

Bei Atopikern findet man einen erhöhten Spiegel von Mediatoren, welche die Chronizität oder auch den Hang zu Rezidiven unterstützen könnten.

Man fand alternierend gesteigerte Expression von IL-4, IL-13, IgE und IgE-Rezeptoren in Polypen von Atopikern. Dies könnte für den gesteigerten IgE-abhängigen Histaminspiegel von Mastzellen in Polypen bei diesen Patienten relevant sein. Da Mastzellen zu den ortständigen Zellen dieses Gewebes gehören, könnte ihre ständige Aktivierung ein Grund für die gesteigerte Inzidenz von Polypen-Rezidiven bei Atopikern sein [22]. Die Mastzellen sind meistens teilweise degranuliert. Ein unmittelbarer Zusammenhang dieser Degranulation mit einer allergischen Reaktion wird jedoch nicht gesehen, da die Aktivierung z.B. neurogen über Substanz P oder über Lymphokine und Komplementfraktionen verläuft [31]. Jedoch können auch IgE Spaltprodukte die Degranulation anregen.

1.2.2 Polyposis und Analgetika-Intoleranz

Besonders hoch ist die Inzidenz der Polyposis nasi bei Patienten mit einer Analgetika-Intoleranz. 52% der Acetylsalicylsäure-intoleranten Patienten sind von einer Polyposis nasi betroffen [1]. Als Samters Trias wird die Polyposis nasi in Vergesellschaftung mit Aspirin-Intoleranz und kortikosteroidsensiblen Asthma bronchiale zusammengefasst. Die nasale Antwort nach Aspirin-Reizung, wie Rhinorrhoe, Niesen und Obstruktion wird von der Pathologie des oberen Respirationstraktes überlagert. Diese Patienten leiden unter ständiger Rhinosinusitis mit Polyposis nasi und einem überdurchschnittlich schweren Asthma, das fast immer eine Therapie mit Kortikosteroiden erfordert.

Vermutlich ist eine Verschiebung des Arachnoidonsäure-Metabolismus - die Inhibition der Cyclooxygenase (COX) - durch nicht-steroidale Antirheumatika für die Folgeerscheinungen der Intoleranz ursächlich. Ob der Pathomechanismus der chronischen Atemwegsinfektion bei Acetylsalicylsäure-toleranten Patienten und Aspirin-intoleranten Patienten identisch ist, ist noch Gegenstand der aktuellen Forschung. Studien von Marek und Mitarbeitern [32] konnten eine höhere Dichte an Eosinophilen und Mastzellen in Polypen von Aspirin-Intoleranten zeigen und nehmen daher unterschiedliche Pathomechanismen an.

Trotz des höheren Gehalts an Eosinophilen bei Aspirin-Intoleranten konnte keine erhöhte Anzahl an apoptotischen Zellen gefunden werden. Diese verminderte Apoptoserate könnte mit der Schwere und Chronizität der Polyposis in Zusammenhang stehen. Die Apoptose wird von Prostaglandin E inhibiert. In Polypen von Aspirin-Sensitiven ist der Prostaglandingehalt im Vergleich zu Aspirin-Toleranten jedoch geringer [32], so dass hier kein Zusammenhang gesehen werden kann.

Die Expression von Cyclooxygenase (COX-2) ist in Polypen bei Aspirin-intoleranten Patienten im Vergleich zu Aspirin-Toleranten vermindert [33], auch die Spiegel von PEG2 sind niedriger; hierbei könnte ein Zusammenhang bestehen. PEG2 wirkt über die Beeinflussung der Chemotaxis anti-inflammatorisch; die niedrigen PEG2-Spiegel könnten infolgedessen für die Intensität der (eosinophilen) Entzündung verantwortlich sein [32].

1.3 Diagnostik

Im Vordergrund der Diagnostik steht die genaue Inspektion der Nasennebenhöhlen mittels anteriorer und posteriorer Rhinoskopie. Methode der Wahl zur weiteren Diagnostik ist die Endoskopie der beiden Nasenhaupthöhlen und des Pharynx. Die Schleimhaut kann so detailliert betrachtet werden und tumoröse Läsionen können rechtzeitig entdeckt werden. Die Computertomographie (CT) ist das bildgebende Verfahren der Wahl. Sie kann in koronarer und axialer Schichtung, oder aber als 3D-Rekonstruktion angefertigt werden. Wichtig ist hierbei, auf eventuell voroperierte Gebiete wie die Lamina papyracea, Siebbeindach und Lamina cribrosa ein besonderes Augenmerk zu richten [4]. Es sei angemerkt, dass sich bei der Interpretation dieser Bilder in 38% ein Normalbefund im CT, intraoperativ als pathologisch darstellt [27].

Auch die Magnetresonanztomographie (MRT) kann im Einzelfall zur genauen Diagnostik und Operationsplanung hinzugezogen werden.

Eventuelle Grundkrankheiten sollten ausgeschlossen werden (Mukoviszidose, Ziliendyskinesie), eine Allergieprüfung und eine Olfaktometrie sollten die Diagnostik vervollständigen. Zur genaueren Einteilung der Polypen kann auch eine Mediatorbestimmung vorgenommen werden [28]. Hierbei werden die Patientenwerte mit Normwerten eosinophiler Proteine abgeglichen.

1.4 Therapie-Optionen

Die Therapiemöglichkeiten der Polyposis nasi bestehen einerseits aus einer medikamentösen Therapie und andererseits aus der operativen Therapiemöglichkeit. Beide Optionen sollen im Folgenden kurz erläutert werden.

1.4.1 Konservative Therapieformen

Zur Therapie der Polyposis nasi gibt es verschiedene konservative Therapiemodelle und Optionen.

Die Therapie der Wahl bei der Polyposis nasi ist neben der operativen Entfernung der Polypen eine konservative Therapie mit topischen oder systemischen Steroiden.

Die Entzündungshemmung ist eine Therapiemöglichkeit, da die Polyposis nasi als entzündliche Erkrankung angesehen werden muss, der eine chronische Sinusitis zu Grunde liegt.

Selbst wenn bei topischer Anwendung das Durchdringen der Nebenhöhle nicht erwiesen ist, so wirken die Steroide doch anti-ödematös und entzündungshemmend, ohne das gesamte Immunsystem zu hemmen [39, 40]. Auch eine kombinierte topische und systemische Behandlung kann Erfolg bringend sein, denn oftmals ist die systemische Therapie mit vielen Nebenwirkungen behaftet, während eine lokale Applikation allein unzureichend ist. In einigen Fällen kann dadurch sogar eine Operation vermieden werden. Kortikoide werden auch unterstützend zur prä- und vor allem postoperativen Therapie eingesetzt.

Die Polyposis geht häufig einher mit einer Eosinophilie und oftmals mit einer schweren Entzündungsreaktion. Da sich diese durch einen Anstieg der Zytokine wie IL-5, RANTES oder Eotaxin auszeichnet, wirken Kortikosteroide hier besonders bemerkenswert. Sie dienen der Unterdrückung der durch (zahlreiche) Mediatoren angeregten und unterhaltenen Entzündungsprozesse. So ist die Eosinophilie häufig ausschlaggebend für die Verwendung von Steroiden in der Therapie. Wie gezeigt werden konnte, wird die Apoptose der Entzündungszellen durch diese Arzneimittelgruppe induziert. Besonders wichtig könnte dabei die hemmende Wirkung auf die T-Zellen bezüglich der IL-5-Produktion sein [39, 41]. Wobei die gewählten Dosierungen in der Therapie der Polyposis meist höher sind, als die der Sinusitis-Therapie.

Es bestehen diverse Studien unterschiedlichen Designs, ungleicher Terminologie und uneinheitlicher Definition über die Therapie der chronischen Sinusitis welche eine Polyposis bedingt. Die bakterielle Flora der Nasennebenhöhle ist bis heute nicht vollständig erforscht. Sie scheint ihre Bedeutung jedoch vor allem in der akuten Sinusitis zu haben und ist zweifelhaft in der chronischen Sinusitis [61, 62]. In einer Studie von Otten und Mitarbeitern [46], welche die antibiotische Therapie bei Kindern mit chronischer Sinusitis untersuchte, konnte kein langfristiger Nutzen nachgewiesen werden. Es lässt sich insgesamt derzeit keine effiziente antibiotische Therapie der chronischen Sinusitis nachweisen.

Antibiotika-Therapien sind nur dann sinnvoll, wenn die Polypen aufgrund einer akuten Sinusitis entstanden sind oder bestehen [1]. In diesen Fällen sollte ein gezieltes Infektmanagement vorgenommen werden.

Antihistaminika werden gelegentlich befürwortet, auch wenn diese die Größe der Polypen nicht unbedingt verringern, so tragen sie aber doch zu einem besseren Befinden der Patienten bei [1]. Sie werden oft in Kombination mit Sympathomimetika eingesetzt, wobei der zusätzlich abschwellende Effekt genutzt werden soll [44].

Mit Dekongestiva und abschwellenden Nasentropfen verhält es sich ebenso wie mit den Antihistaminika. Sie verbessern zwar die Belüftung des unteren Nasennebenhöhlensystems und tragen so zur besseren Befindlichkeit des Patienten bei wirken aber nur symptomatisch [2]. Sie wirken vornehmlich auf die untere und mittlere Muschel, gelangen aber nicht in die erkrankte Kieferhöhle oder die Siebbeinzellen [37]. So sind sie wirksam für ein gezieltes Abschwollen im mittleren Nasengang, wie bei einer hohen Einlage genutzt, jedoch nicht für den Krankheitsverlauf.

Sekretolytika, wie z.B. Acetylcystein werden häufig additiv zur Therapie mit Antibiotika bei der Sinusitis benutzt. Es liegt jedoch keine Evidenz vor [38], dass dies positiven Einfluss auf den Krankheitsverlauf hat. Für die chronische Sinusitis liegt keine ausreichende Studienlage vor, es wird zwar von positiven Effekten berichtet, diese sind jedoch ohne wissenschaftlichen Nachweis.

Bakterienlysate, bestehend aus nicht mehr pathogenen Bakterienbestandteilen, welche durch aufwendige Verfahrenstechniken aufgearbeitet wurden, haben eine hohe immunogene Wirkung [100]. Als prophylaktische Therapie zusätzlich zur Basistherapie scheinen sie im Kindesalter eine Reinfektion einer Rhinosinusitis und somit die Gefahr einer Chronifizierung wenigstens zu reduzieren. Das Wiederauftreten einer Rhinosinusitis konnte in einer Studie von Gomez-Barreto und Mitarbeitern mit Kleinkindern über einen sechsmonatigen Beobachtungszeitraum signifikant reduziert werden [48].

1.4.2 Operative Therapie

Die chirurgische Intervention ist indiziert, wenn konservative Maßnahmen zu keinem befriedigenden Erfolg geführt haben, es weiterhin zu hartnäckigen Sinusitiden oder Obstruktionen der Nasennebenhöhlen kommt, welche vielfach mit Hyp- oder Anosmie einhergehen oder wenn der Patient eine konservative Behandlung ablehnt.

Absolut indiziert ist die chirurgische Therapie jedoch bei Malignomverdacht, Orbitabeteiligung, ebenso wie bei endokraniellen [29], oder septischen Komplikationen [30].

Die chirurgische Therapie sollte nicht zu radikal durchgeführt werden und sich eher auf die laterale Nasenwand als auf die gesunde Schleimhaut der Nebenhöhlen selbst beziehen [24]. Große Erfolge hat in den letzten Jahren der Einsatz der minimal invasiven, endoskopischen oder mikrochirurgisch kontrollierten Chirurgie gebracht. Dadurch kann die natürliche Drainage der Nebenhöhlen beibehalten werden. Wichtig ist hierbei, dass die Beseitigung von ostiomeatalen Engstellen angestrebt wird, um die regelrechte Belüftung der Nasennebenhöhlen herzustellen.

Die systematische Nasennebenhöhlenoperation ist die Methode der Wahl. Zur genauen Lokalisation der Polypen sollte präoperativ ein CT durchgeführt werden. Die Operation wird endonasal mittels Endoskop oder Mikroskop durchgeführt. Die erkrankten Siebbeinzellen werden eröffnet und eine Drainage zur Nasenhöhle hin wird angelegt. Im mittleren Nasengang wird der natürliche Ausführungsgang der Kieferhöhle wieder freigelegt. Bei Bedarf kann auch der Stirnhöhlenausführungsgang über diesen Zugang erweitert oder die Vorderwand der Keilbeinhöhle reseziert werden [9]. Im Wesentlichen wird in individuellem Ausmaß, die erkrankte Mukosa entfernt [34] und eine regelrechte

Drainage und Belüftung der betroffenen Nasennebenhöhle wieder hergestellt. Sowohl die Nasenatmung und die regelrechte Belüftung werden wieder ermöglicht [35], als auch der oft eingeschränkte Geruchssinn verbessert [36]. Je nach Ausmaß der Läsion verhält sich der Heilungsverlauf.

Radikalere Methoden wie intranasale Antrostomy, externe Ethmoidektomie und Caldwell-Luc maxillary antrostomy sind reserviert für Fälle, die der endoskopischen Chirurgie nicht zugänglich sind [1]. Als weitere Operationsmethoden stehen die Conchotomie und die Septumplastik zur Verfügung [4].

In vielen Fällen ist die Schleimhaut postoperativ nicht wieder voll funktionsfähig [63,64,65] und von einer vollständigen Normalisierung der Lebensqualität kann nicht ausgegangen werden.

Der objektive und subjektive Erfolg der Therapie weicht jedoch oft weit voneinander ab. Eine Studie zum subjektiven und objektiven Therapieerfolg zeigt, dass 91% der Patienten, bei welchen objektiv von einer kompletten Ausheilung gesprochen werden kann, auch subjektiv den Eindruck eines Therapieerfolges haben [66], während in einer Patientengruppe, in welcher es objektiv zu einer völlig unbefriedigenden Ausheilung kam, 90% der Patienten die Therapie als erfolgreich beurteilen würden.

1.4.3 Rezidivprophylaxe

Die Rezidivrate nach Polyposis-Operationen liegt zwischen 40-90% [1]. Es ist mit sekundären Rezidivsinusitiden nach Synechien, Lateralisation der mittleren Muschel sowie mit neuen Problemen wie Vernarbung des Stirnhöhlenzugangs (2%) zu rechnen [67, 68,].

Tragende Säule in der postoperativen Therapie ist vor allem der Einsatz von Kortikoiden. Favorisiert werden Mometason, Fluticason, Flunisolid oder Beclometason, welche mindestens drei Monate postoperativ eingesetzt werden sollten. Im Falle eines Polypenrezidivs sollte eine systemische Therapie mit z.B. Prednisolon zum Einsatz kommen [70].

Der frühestmögliche postoperative Einsatz einer Rezidivprophylaxe nach einer chirurgischen Intervention ist für 6-12 Monate erstrebenswert und zu empfehlen.

Der Zeitpunkt des Rezidivauftritts konnte in einigen Studien mit Beclomethason und Budesonid signifikant hinausgezögert und positiv beeinflusst werden, wobei diese Ergebnisse nicht über den Zeitraum eines Jahres hinausreichen [42, 43]. Weitere medikamentöse Möglichkeiten zur Rezidivprophylaxe bieten beispielsweise Cineol als Hemmer des monozytären Arachidonsäuremetabolismus und der IL-1 β -Produktion [71] und Montelukast als Leukotrienantagonist [72, 73, 74].

Ebenso gilt die Dauergabe von Acetylsalizylsäure als gesicherter Beitrag zur Rezidivprophylaxe [25].

Eine postoperative prophylaktische Therapie mit Antibiotika wird unterschiedlich bewertet. Eine Studie von Annys et al [75] zeigte keine objektivierbaren Erfolge.

1.4.4 Alternative Therapieansätze

Die Fibroblastenproliferation gilt als einer der Grundbausteine der Polypenbildung. In wissenschaftlichen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass die Fibroblastenproliferation medikamentös beeinflussbar ist. Diese Option findet bis dato jedoch noch keinen Einsatz in der Therapie der Polypen.

Das Calcium Kation hat grossen Einfluss auf die Fibroblastenbildung und Calciumkanalblocker wie zum Beispiel Verapamil können deren Proliferation inhibieren [51].

Fibroblasten tragen β -adrenerge Rezeptoren [89; 54]. Hinsichtlich der Glaukomtherapie werden die Einflüsse von β -Blockern auf das Fibroblastenwachstum bereits diskutiert [101], da sich eine Inhibition des Zellwachstums zeigen liess [86].

Auch das Parasympathomimetikum (muscarine Agonisten) Pilocarpin zeigte inhibitorische Wirkungen auf das Fibroblastenwachstum [55], was bisher in der Polypentherapie unbeachtet blieb.

Bei einer weiteren Medikamentengruppe, den COX-Inhibitoren wurden ebenfalls hemmende Einflüsse auf das Fibroblastenwachstum nachgewiesen. Die Stärke der Wirkung war der von Steroiden sehr ähnlich [56, 60].

Ebenfalls Phosphodiesterase-Inhibitoren wie Pentoxifyllin zeigten in der Inkubation von Fibroblasten einen inhibitorischen Effekt auf deren Wachstum [97], was bisher in der Polypentherapie ungenutzt blieb.

2. Fragestellung

Die bisherige Therapie der Wahl der Polyposis nasi ist, nach wie vor, die chirurgische Sanierung, da konservative Therapie-Massnahmen häufig fehlschlagen oder das erzielte Resultat für den Patienten unbefriedigend ist.

Wie bereits erwähnt, kommt es sehr häufig zu Rezidiven der Polyposis. Auch der Einsatz von Kortikoiden, wie Budesonid, Flunisolid, Triamcinolol, Fluticason und Mometason, konnte die Rezidivrate von 40-90% nicht signifikant reduzieren. Es gibt also zur Zeit keine befriedigende Therapie-Form oder Rezidivprophylaxe mit den derzeit verwendeten pharmakologischen Therapeutika.

Wie sich in wissenschaftlichen Arbeiten mit anderen Zielstellungen und unter Verwendung unterschiedlicher Gewebe herausgestellt hat, kann die Proliferation von Fibroblasten verschiedener Herkunft bei Verwendung von bislang im HNO-Fachgebiet nicht angewendeter Präparate, wie zum Beispiel Ca-Kanalblocker und β -Rezeptorblocker beeinflusst werden [76, 77, 55].

Der Ca^{++} -Kanalblocker Verapamil inhibiert in vitro die Fibroblasten-Proliferation bei bestimmten Konzentrationen [76]. Auch Timolol als β -Rezeptorblocker hat eine inhibierende Wirkung auf das Wachstum von Fibroblasten und in höheren Dosen sogar toxische Komponenten [77]. Ebenso zeigen Anticholinergika wie Pilocarpin antiproliferative Wirkung auf das Fibroblastenwachstum [55]. Somit könnten diese Medikamente eventuell auch Einfluss auf das Polypenwachstum haben, die Rezidivrate reduzieren oder die Rezidive zumindest hinauszögern. Da sich diese Medikamente im Klinikalltag bereits in anderen Therapien etabliert haben, wählten wir diese und einige der oben genannten Steroide für unsere Versuche aus.

Ziel dieser Arbeit ist es daher, die möglichen inhibitorische Effekte dieser Präparate im Vergleich mit bislang verwendeten Pharmaka quantitativ zu untersuchen.

Als Untersuchungsgegenstand sollten dabei nicht etablierte Zelllinien, sondern aus Polypen gewonnene Primärkulturen von Fibroblasten verwendet werden, um mit praxisnäheren Zellen zu arbeiten und um mögliche Unterschiede bei verschiedener individueller Herkunft der Fibroblasten zu erkennen.

3. Methodik

3.1 Herkunft und Gewinnung der Fibroblasten

Die verwendeten Fibroblasten wurden ex vivo aus Polypen gewonnen, welche während der funktionellen endoskopischen bzw. mikroskopischen Nasennebenhöhlenrevision routinemäßig entnommen wurden. Sie stammten aus unterschiedlichen Lokalisationen und unterschiedlicher Genese.

Das Probenmaterial wurde zerkleinert und in Pronase E-Lösung (Fa. Sigma) (2 mg/ml in NaCl-Lösung, 0.1 mg /ml Gentamycin) zwei Stunden bei 37°C geschüttelt. Danach wurde es zweimal in NaCl-Lösung gewaschen und anschließend in Kollagenase B-Lösung (1mg/ml in RPMI 1640, 0.1 mg/ml Gentamycin) für ca. 16-24 Stunden erneut geschüttelt. Die so entstandene Zellsuspension wurde, nachdem sie erneut in NaCl-Lösung gewaschen wurde, in einem Kulturmedium angesetzt.

Kulturmedium: DMEM (Dulbeccos Modified Eagle's Medium), 10% FCS (Fetales Kälberserum), 2mM/l L-Glutamin, 1% MEM-NEA ("Minimal Essential Medium-Nonessential Amino Acids"), 100 IU/ml Penicillin, 100 µg/ml Streptomycin; 2,5 µg/ml Amphoterecin B (alles von Fa. Gibco).

Die ex vivo proliferierten Zellen wurden erst verwendet, nachdem sie morphologisch (Phasenkontrastmikroskop) und flowzytometrisch (Anti-humaner Fibroblastenantikörper; FITC konjugiert; Dianova GmbH, Clon AS02) als Fibroblasten identifiziert wurden.

Die derart hergestellten Kulturen erhielten die Bezeichnungen A-J.

Es wurden 8 bis 10 verschiedene Fibroblastenkulturen auf ihr Wachstum unter Zusatz der verschiedenen Medikamente getestet.

3.2 Zellkultur

Alle biologischen Arbeiten wurden unter einer Sterilbank durchgeführt. Die Fibroblasten wurden im Brutschrank (Fa. Heraeus) bei 37°C, 5%CO₂ und 95% Luftfeuchtigkeit kultiviert.

Für die Kultivierung wurden 25 cm²-Zellkulturflaschen (Fa. Greiner) verwendet. Ein Mediumwechsel erfolgte alle 2-3 Tage. Die adhärent wachsenden Zellen wurden mittels Trypsin/EDTA und PBS-Puffer 1:10 passagiert.

3.3 Flowzytometrische Analyse der Fibroblastenkulturen

Durchflusszytometrie (FACS)

Die Durchflusszytometrie (FACS steht für Fluorescence Activated Cell Sorting) ist ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung von Oberflächenmolekülen und intrazellulären Proteinen.

Grundlage ist die Antigen-Antikörper-Reaktion, die mit Fluoreszenzfarbstoff-markierten Antikörpern durchgeführt wird.

Eine gleichzeitige FACS-Messung mit verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen ist möglich, weil sich die eingesetzten Farbstoffe zwar bei einer gemeinsamen Wellenlänge anregen lassen, aber über unterschiedliche, für den jeweiligen Farbstoff charakteristische Emissionsspektren verfügen. Eine Verwendung verschiedener Fluoreszenzfarbstoffe ist notwendig, um die Fibroblasten sicher von anderen Zelltypen zu unterscheiden und zu separieren.

Hierzu wurden die Zellen aus ihrer Kultur abgelöst und zweimal mit PBS-Puffer gewaschen. Anschließend wurden die Zellen 30 Minuten in 2%igem Paraformaldehyd (PFA) in PBS fixiert und danach zweimal mit PBS gewaschen. Während der nun folgenden Inkubations- und Waschschrte wurden das PBS mit 1 mg/ml Saponin und 2,4 mg/ml HEPES (Sapo-Puffer) versehen.

Circa eine Million Zellen wurden jeweils dreimal in 5 ml Costar-Röhrchen abzentrifugiert mit einer g-Zahl von 250 und einer Zentrifugenzeit von 7 Minuten. Der Überstand wurde abgossen. Nun wurde dem ersten Röhrchen 10µl IgG1 (DAKO, Kontrollantikörper (20 µg/ml)) zugefügt. Das zweite wurde mit 10 µl MNF 116 (DAKO, Anti-epitheliale-Zellen-Antikörper (20 µg/ml)) befüllt und das dritte mit 10 µl AS02 (Dianova, Anti-Fibroblasten-Antikörper (20µg/ml)). Anschließend wurden die Zellen gevortext und für 30 Minuten in den Kühlschrank gestellt. Danach mussten die

Zellen erneut mit Sapo-Puffer gewaschen und abzentrifugiert werden (7 min mit g-Zahl 250). Nun wurden sie mit 10µl Ziege-Anti-Maus-FITC (Dianova, (200 µg/ml)) inkubiert, gevortext und erneut für 30 Minuten im Kühlschrank gekühlt. Anschließend mussten die Zellen zweimal mit Sapo-Puffer und einmal mit PBS-Puffer ohne Saponin und Hepes gewaschen werden, bevor sie im Flowzytometer FACSan (BD) gemessen und ausgewertet wurden. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgte als Histogramm.

3.4 Protokoll 3H-Thy-Proliferationsansatz

[Methyl-³H]-Thymidin-Behandlung zur Detektion der Fibroblastenproliferation

Das Grundprinzip ist, dass je mehr Zellproliferation, also Zellteilung und dabei Synthese, desto mehr 3H-Thymidin wird in die DNA eingebaut und somit am Ende wieder freigesetzt und gemessen. Ermittelt wurde dabei die Anzahl der "Zerfälle pro Zeiteinheit (cpm)". Diese ist proportional der eingebauten 3H-Thy Menge.

Die Zellproliferation wurde durch den Einbau von tritiummarkiertem Thymidin in die DNA bestimmt.

Dabei wird die Energie der radioaktiven β -Strahlung durch die Szintillationsflüssigkeit absorbiert und in sichtbare Strahlung (Lichtblitze) umgewandelt, die photoelektrisch als „counts per minute“ (cpm) registriert wird.

Zur Erhöhung der Genauigkeit erfolgten alle Ansätze als Triplikate, von denen Mittelwerte gebildet wurde. Desweiteren wurde bei jeder einzelnen Versuchsreihe ein Zellansatz ohne Medikamentenzusatz gemessen und als Leerwert benutzt, um die Resultate der Medikamentenansätze darauf prozentual zu beziehen.

Die Bestimmung des Ausmaßes der Inhibition der Zellproliferation erfolgte mittels Messung der radioaktiven β -Strahlung des ³H-Thymidin, durch einen Szintillationszähler als „counts per minute“ (cpm), da dies ein gängiges, reproduzierbares Verfahren ist.

Durch den cpm-Vergleich zwischen dem Leeransatz ohne Medikament und den Zellansätzen mit Medikament konnte das Ausmaß der Proliferationsinhibition der verschiedenen Medikamentenwirkstoffe bestimmt werden.

Erster Tag

- in 96er Mikrotiterplatte (Flachboden, TC behandelt, Fa. Nunc) je Well 130 µl Medium + 20 µl der jeweiligen Wirkstoffkonzentrationslösung (bis auf einzelne Ausnahmen, siehe weiter unten im Text bei den einzelnen Medikamenten), die dann in 200µl ein Zehntel dieser Konzentration als Wirkstoffendkonzentration ergibt
- + entsprechendes Volumen der Zellsuspension (10.000 Zellen bestimmt mit Neubauer-Zählkammer)
- + Restvolumen bis 200 µl
- Platte über 2 Nächte in Brutschrank stellen

Dritter Tag

- ³H-Thy-Stammlösung ([*methyl*-³H] Thymidine Stammlösung (Fa. AmershamBiosciences) Aqueous solution, sterilized. 1.5-2.2 TBq/mmol, 40-60 Ci/mmol. 37 MBq/ml, 1 mCi/ml) verdünnen: 1:20 auf 50µCi/ml verdünnt mit Medium
- davon jeweils 20µl jedem Well hinzugegeben (entspricht 1µCi pro Well)
- Zellen sanft auf der Taumel hin und her bewegen
- Platte über Nacht wieder in Brutschrank stellen

Vierter Tag

- in Zellharvester grünes Wischpapier einlegen, Medium aus Platte absaugen,
- mittels 8-Kanal-Dispenser 200 µl PBS pro Well zugeben
- mittels Harvester absaugen
- die letzten beiden Schritte 10x durchführen
- mittels 8-Kanal-Dispenser 200 µl 1n NaOH pro Well zugeben, Platte ca. eine Stunde auf die Taumel stellen zum Lösen der Zellen
- in nummeriertes Meßröhrchen 2ml Szintillationsflüssigkeit (Ultima Gold, Liquid Scintillation Cocktail, Fa. Packard)
- + die 200 µl aus Well, verschließen, einmal schütteln, und 1 Min. messen (Szintillationszähler, LKB Wallac)

3.5 Verwendete Medikamente

Für die vergleichende Untersuchung wurden die Effekte von 10 verschiedenen Medikamenten aus unterschiedlichen Wirkstoffgruppen untersucht:

Medikamente, die bereits in der HNO verwendet werden:

1.

Wirkstoffgruppe: Glucocorticoide (nicht halogeniert)
Handelspräparat: Solu-Decortin (H 50) (Merck Pharma)
1 Ampulle Trockensubstranz (Lyophilisat)
= 50 mg Prednisolon-21- hydrogensuccinat
= 37,4 mg Prednisolon;
Int. Freiname: Prednisolon-21-hydrogensuccinat, Natriumsalz

2.

Wirkstoffgruppe: Glucocorticoide (nicht halogeniert)
Handelspräparat: Urbason (Lyophilisat) (Sanofi-Aventis)
1 Ampulle Trockensubstranz (Lyophilisat)
= 42 mg Prednisolon-21- hydrogensuccinat
= 32 mg Methylprednisolon
Int. Freiname: Methylprednisolon (-21-hydrogensuccinat)

3.

Wirkstoffgruppe: Glucocorticoide (halogeniert)
Handelspräparat: Fortecortin (Injektionslösung) (Merck Pharma)
(Fortecortin Mono 40 (8 mg/ml = 8 µg/µl))
Int. Freiname: Dexamethason-21-hydrophosphat

4.

Wirkstoffgruppe: Glucocorticoide
Handelspräparat: Hydrocortison (Lösung) (Herstellung Zentralapotheke)
15 mg/ml = 15 µg/µl in Ethanol
Int. Freiname: Hydrocortison

5.

Wirkstoffgruppe: Glucocorticoide (chloriert)
Handelspräparat: Ecural (Lösung) (Essex Pharma)
(1mg/ml = 1 µg/µl)
Int. Freiname: Mometason-17-(-2-furoat)

Bisher noch nicht in der HNO verwendete Medikamente:

1.

Wirkstoffgruppe: beta-Rezeptorblocker (nicht selektiv)
Handelspräparat: Timohexal (0,25% Augentropfen) (Fa. Hexal AG)
1ml Lösung = 3,42 mg Timololhydrogenmaleat
= 2,5 mg Timolol;
Int. Freiname: Timolol (-hydrogenmaleat)

2.

Wirkstoffgruppe: Cholinergikum (muscariner Agonist)
Handelspräparat: Pilomann (1% Augentropfen) (Dr. Mann Pharma)
1g Lösung = 10,00 mg Pilocarpinhydrochlorid;
Int. Freiname: Pilocaprin (-hydrochlorid)

3.

Wirkstoffgruppe: Nichtsteroidale Antirheumatika (COX-2 Inhibitor)
Handelspräparat: Piroxicam (20 mg Injektionslösung (i.m.)) (STADA)
1 Ampulle mit 1 ml = 20 mg Piroxicam;
Int. Freiname: Piroxicam

4.

Wirkstoffgruppe: Kalzium-Kanal-Blocker (CCB)
Handelspräparat: Falicard (Injektionslösung i.v.) (ASTA Medica AWD)

1 Ampulle mit 2ml Lösung = 5mg Verapamilhydrochlorid;

Int. Freiname: Verapamil (-hydrochlorid)

5.

Wirkstoffgruppe: Hämorheologikum

Handelspräparat: Trental (Aventis Pharma Deutschland)
(Injektionsösung, 100mg in 5ml)

Int. Freiname: Pentoxifyllin

Im Folgenden wird für die Bezeichnung der verwendeten Präparate die Kurzform des internationalen Freinamens verwendet.

Aus den entsprechenden Präparaten wurden Stammlösungen mit dem Kultivierungsmedium hergestellt. Angestrebt wurde folgende Konzentrationsreihe als Wirkstoffendkonzentrationen im Versuch: 0,01 mg/ml; 0,03 mg/ml; 0,05 mg/ml; 0,1 mg/ml; 1mg/ml; 2mg/ml. Die Konzentrationen der entsprechenden Wirkstoffstammlösungen betrugen das 10-fache der angestrebten Endkonzentrationen, da gemäß 3.4. der Anteil der Wirkstoffstammlösungen im Gesamtansatz (200 µl) 10% betrug. Dies setzte eine Mindestkonzentration an Wirkstoff im entsprechenden Ausgangspräparat von 20 mg/ml voraus, um die angestrebte höchste Wirkstoffendkonzentration von 2 mg/ml zu erreichen. Bei einem Teil der Präparate war dies nicht möglich, da im verwendeten Medikament die Wirkstoffkonzentrationen nicht ausreichend hoch waren und keine Präparate in höherer Konzentration zur Verfügung standen (Timolol 2,5 mg/ml; Pilocarpin 10 mg/ml; Verapamil 2,5 mg/ml; Dexamethason 8 mg/ml). Daher konnte dieser Teil der Wirkstoffe nicht in den höchsten Konzentrationen getestet werden.

Eine weitere Einschränkung hinsichtlich der genauen Endkonzentrationsangaben ergab sich durch die geringe Wasserlöslichkeit einiger Wirkstoffe. Dies betrifft Piroxicam, Hydrocortison und Mometason. Der Verdünnungsalgorithmus wurde hier jedoch ohne tieferen Sinn stur eingehalten. Aufgrund geringer Wasserlöslichkeit kann es zum Niederschlag der Medikamente kommen. Die entsprechenden Unterschiede zwischen theoretischer und praktischer Konzentration sind in der Verdünnungstabelle der entsprechenden Medikamente angegeben. Es ist davon auszugehen, dass die

Differenzmengen der entsprechenden Wirkstoffe in Form von Suspensionen als Niederschläge in den Wells vorliegen und daher auf die adhärent wachsenden Zellen auch wirksam sein können. Diese möglichen Wirkungen sind jedoch nicht quantifizierbar.

Im folgenden sind die einzelnen Medikamentenansätze dargestellt:

1. Prednisolon-21-hydrogensuccinat-Na-Salz (Solu-Decortin)

gut wasserlöslich

Prednisolon-21-hydrogensuccinat-Na-Salz (Solu-Decortin)(Wirkstoffkonzentration: 50 mg/ml)			
Endkonzentration mg/ml	Stammlösung mg/ml	Ausgangslösung ml	Medium ml
0,01	0,1	1	499
0,03	0,3	3	497
0,05	0,5	5	495
0,1	1	10	490
1	10	100	400
2	20	200	300

2. Methylprednisolon-21-hydrogensuccinat (Urbason)

Methylprednisolonnatriumsuccinat ist eine geruchlose, praktisch weisse, hygroskopische und amorphe Substanz, die sowohl in Wasser als auch in Alkohol sehr gut löslich ist (94).

Methylprednisolon-21-hydrogensuccinat (Urbason)(Wirkstoffkonzentration: 21 mg/ml)			
Endkonzentration mg/ml	Stammlösung mg/ml	Ausgangslösung ml	Medium ml
0,01	0,1	2,4	497,6
0,03	0,3	7,1	492,9
0,05	0,5	11,9	488,1
0,1	1	23,8	476,2
1	10	238	262
2	20	476	24

3. Dexamethason-21-hydrophosphat

Dexamethasonnatriumphosphat kommt als praktisch geruchloses, weisses bis leicht gelbliches, hygroskopisches Pulver vor. Die Wasserlöslichkeit beträgt 0,5 g/ml. In Alkohol ist der Wirkstoff schwach löslich (94).

Dexamethason-21-hydrophosphat (Fortecortin Mono 40 (Wirkstoffkonzentration: 8 mg/ml))			
Endkonzentration mg/ml	Stammlösung mg/ml	Ausgangslösung ml	Medium ml
0,01	0,1	6,3	493,7
0,03	0,3	18,8	482,2
0,05	0,5	31,5	468,5
0,1	1	62,5	437,5
0,2	2	125	375

4. Hydrocortison

Die Löslichkeit von Hydrocortison beträgt bei einer Temperatur von 25°C in Wasser 0,28 mg/ml, in Ethanol 15,0 mg/ml und in Methanol 6,2 mg/ml (95).

Hydrocortison (ZAP) (15 mg/ml in Ethanol)			
Endkonzentration mg/ml	Stammlösung mg/ml	Ausgangslösung ml	Medium ml
theoretisch / praktisch	theoretisch / praktisch		
0,01 / 0,01	0,1 / 0,1	3	497
0,03 / 0,03	0,3 / 0,3	10	490
0,05 / 0,03	0,5 / 0,3	17	483
0,1 / 0,03	1 / 0,3	33	467
1 / 0,3	10 / 7*	330	170
1,5 / 0,3	15 / 15	500	0

* dieser Wert ist geschätzt, da für die Löslichkeit von Hydrocortison in einer 66%igen wässrigen Ethanollösung keine Angaben vorliegen

5. Mometason -17 (- 2-furoat)

Mometason hat eine Löslichkeit von 0,02mg/ml in Wasser (Angabe Essex)

Mometason-17-(-2-furoat) (Ecural) (1mg/ml)			
Endkonzentration mg/ml	Stammlösung mg/ml	Ausgangslösung ml	Medium ml
theoretisch / praktisch	theoretisch / praktisch		
0,01 / 0,002	0,1 / 0,02	50	450
0,03 / 0,002	0,3/ 0,02	170	330
0,05 / 0,02*	0,5 / 0,2*	250	250

* dieser Wert ist geschätzt, da für die Löslichkeit von Mometason unter diesen Bedingungen keine Angaben vorliegen

6. Timololhydrogenmaleat (Synonym Timololmaleat)

Timololhydrogenmaleat ist löslich in Wasser, Ethanol und Methanol, schwer löslich in Chloroform und kaum löslich in Cyclohexan. Bei dem Wirkstoff handelt es sich um weisse Kristalle mit einem Schmelzpunkt von 201,5 - 202,5°C. Die chemische Formel lautet $C_{13}H_{24}N_4O_3S \cdot C_4H_4O_4$ und das Molekulargewicht beträgt 432,50.

Timololhydrogenmaleat (Timohexal) (Wirkstoffkonzentration: 2,5 mg/ml)			
Endkonzentration mg/ml	Stammlösung mg/ml	Ausgangslösung ml	Medium ml
0,01	0,1	20	480
0,03	0,3	60	440
0,05	0,5	100	400
0,1	1	200	300

7. Pilocarpinhydrochlorid

Pilocarpin ist in Wasser und Alkohol löslich, in Ether und Chloroform praktisch unlöslich (92). Es handelt sich um hygroskopische, farblose, durchsichtige und geruchlose Kristalle mit einem leicht bitteren Geschmack (91). Die chemische Formel lautet $C_{11}H_{16}N_2O_2 \cdot HCl$ und das Molekulargewicht beträgt 244,72. Der Schmelzpunkt liegt bei 204 - 205°C (91).

Pilocarpinhydrochlorid (Pilomann 1%) (Wirkstoffkonzentration:10 mg/ml)			
Endkonzentration mg/ml	Stammlösung mg/ml	Ausgangslösung ml	Medium ml
0,01	0,1	5	495
0,03	0,3	15	485
0,05	0,5	25	475
0,1	1	50	450
1	10	500	0

8. Piroxicam

Piroxicam ist praktisch unlöslich in Wasser und Cyclohexan, wenig löslich in Methanol und Ethanol und löslich in einigen Lösungsmitteln, wie z.B. Dichlormethan und Chloroform. Die Grenze für die Bezeichnung praktisch unlöslich ist nach Ph. Eur. eine geringere Löslichkeit, als ein Masseil Wirkstoff in zehntausend Teilen Lösungsmittel (das entspricht weniger als 100 mg in 1 kg Lösungsmittel). Haack ermittelte eine Sättigungskonzentration von Piroxicam in Wasser von 6.1 mg l⁻¹ (25 °C) und 8.1 mg l⁻¹ (40 °C) [90]. Daher können die theoretisch errechneten Konzentrationen nicht erreicht werden. Näherungsweise:

Piroxicam (Piroxicam-Stada) (20 mg/ml)			
Endkonzentration mg/ml	Stammlösung mg/ml	Ausgangslösung ml	Medium ml
theoretisch / praktisch	theoretisch / praktisch		
0,01 / 0,0006	0,1 / 0,006	2,5	497,5
0,03 / 0,0006	0,3 / 0,006	7,5	492,5
0,05 / 0,0006	0,5 / 0,006	12,5	487,5
0,1 / 0,0006	1 / 0,006	25	475
1 / 0,0006	10 / 0,006	250	250
2 / 0,006	20 / 20	500	0

Folgende arzneilich nicht wirksame Bestandteile sind in dem Medikament enthalten:

Piroxicam (Stada) Injektionslösung:

- Hyprolose, Magnesiumstearat, Lactose-Monohydrat, mikrokristalline Cellulose, Ethanol 96 %, Natriumdihydrogenphosphat 2 H₂O, Natriumhydroxid, Nicotinamid, Propylenglycol, Salzsäure, Wasser für Injektionszwecke

9. Verapamil (-hydrochlorid) (Falicard)

Verapamil ist ein bitter schmeckendes, nahezu weißes, kristallines Pulver. Es ist löslich in Wasser. Die Injektionslösung besitzt einen pH-Wert von 4 - 6,5 (93).

Verapamil (Falicard) (Wirkstoffkonzentration: 2,5mg/ml)			
Endkonzentration mg/ml	Stammlösung mg/ml	Ausgangslösung ml	Medium ml
0,01	0,1	20	480
0,03	0,3	60	440
0,05	0,5	100	400
0,1	1	200	300

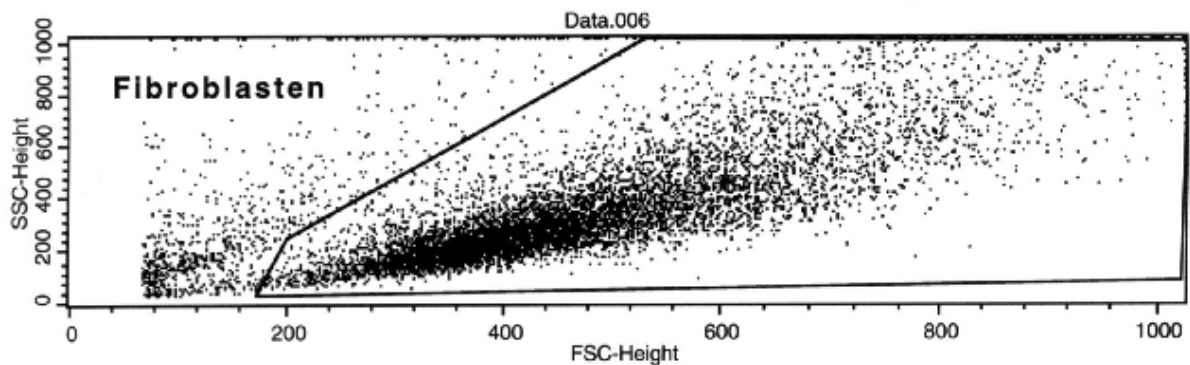
10. Pentoxifyllin

Pentoxifyllin hat eine sehr hohe Löslichkeit in Wasser von 985g/l

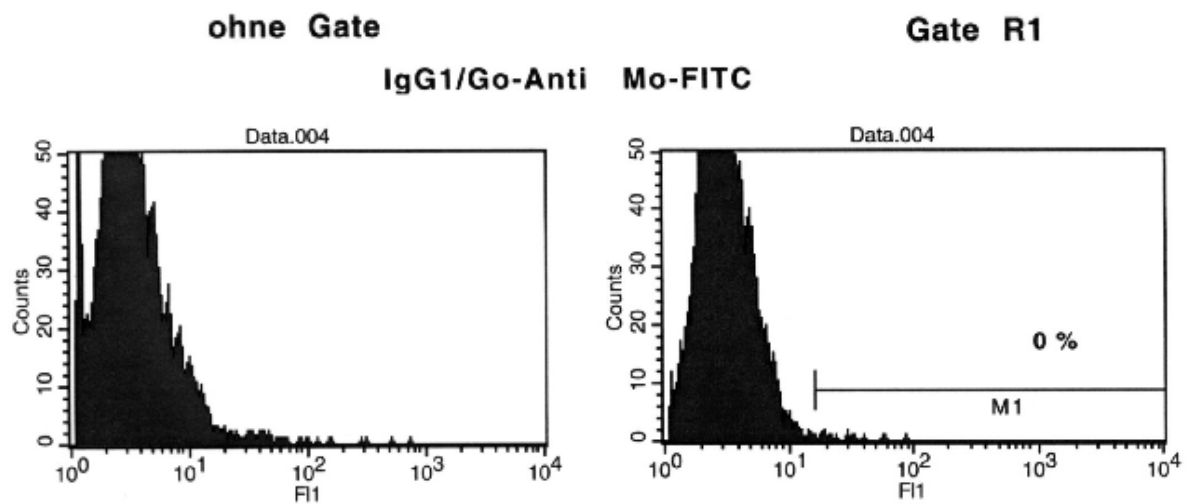
Pentoxifyllin (Trental) (Wirkstoffkonzentration: 20 mg/ml)			
Endkonzentration mg/ml	Stammlösung mg/ml	Ausgangslösung ml	Medium ml
0,01	0,1	7,5	492,5
0,03	0,3	15	485
0,05	0,5	37,5	462,5
0,1	1	75	425
1	10	250	250
2	20	500	0

4. Ergebnisse

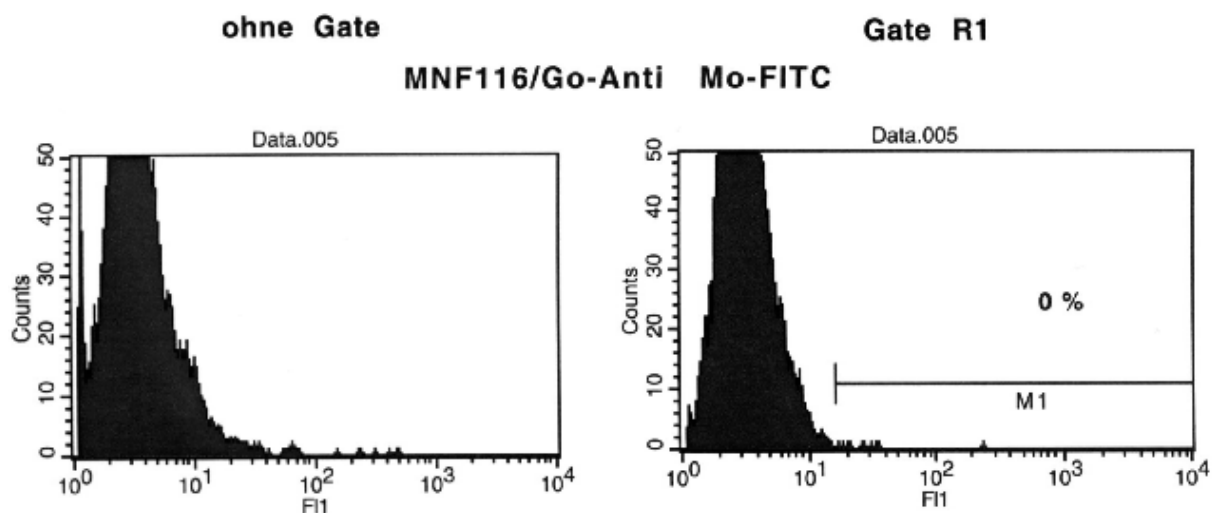
4.1 Ergebnisse der Flowzytometrischen Analyse der Fibroblastenkulturen



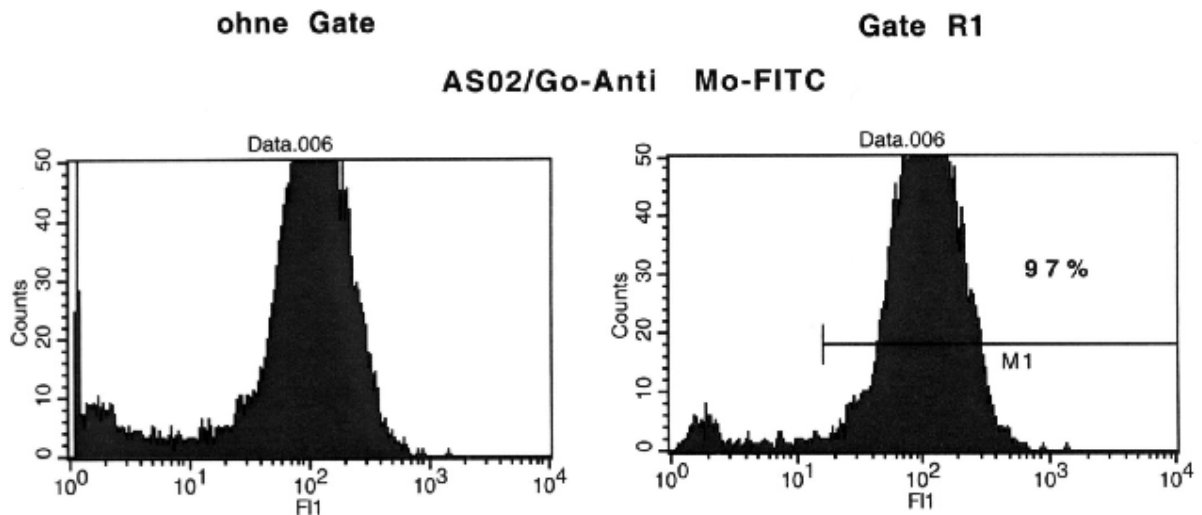
4.1.1. Gesamtbereich, der im Folgenden in Gate R1 vermessen wird



4.1.2. Fluoreszenzintensität der mit unspezifischem Antikörper IgG1 inkubierten Zellen



4.1.3. Fluoreszenzintensität der mit Anti-Epithelzell-Antikörper inkubierten Zellen



4.1.4. Fluoreszenzintensität der mit Anti-Fibroblasten-Antikörper inkubierten Zellen

Um die Reinheit der Fibroblasten sicherzustellen, wurden diese flowzytometrisch gemessen. In den Abbildungen 4.1.1. - 4.1.4. sind die Ergebnisse der flowzytometrischen Messung dargestellt. In dem obersten Bild wird der im Folgenden in Gate R1 vermessene Bereich gekennzeichnet. Dieser grenzt Zelltrümmer und nicht ins Hauptfeld passende Zellen aus. Es ist zu erkennen, dass es sich vornehmlich um eine einzelne Zellgruppe (Fibroblasten) handelt, da nur eine Zellwolke erkennbar ist. In den drei folgenden gegenüber gestellten Bildern, ist die Fluoreszenzintensität (hervorgerufen durch den gebundenen Fluoreszenzfarbstoff FITC) der Zellen abgebildet, welche mit verschiedenen Antikörpern inkubiert wurden. In der oberen Gegenüberstellung wurden die Zellen mit einem unspezifischen Antikörper IgG1 inkubiert. Wie in Diagramm von Gate R1 zu sehen ist, liegen keine (0%) fluoreszierenden Antigen-Antikörperverbindungen vor. Ein sehr ähnliches Ergebnis, ohne Antigen-Antikörperverbindungen (0%) zeigt sich im Bild darunter (4.1.3.). Hier wurden die Zellen mit einem Anti-Epithelzellen-Antikörper inkubiert. Im letzten Bild (4.1.4.) hingegen, in welchem die Zellen mit einem Anti-Fibroblasten-Antikörper inkubiert wurden, kann man eine eindeutige Fluoreszenzsteigerung erkennen. 97% der Zellen sind mit fluoreszierenden Antikörper markiert, woraus sich schließen lässt, dass es sich bei 97% der Zellen um Fibroblasten handelt.

4.2 Medikamente

Die Wirkstoffe aus verschiedenen chemischen Stoffgruppen wurden in aufsteigenden Konzentrationen von 0,01 mg/ml bis zu 2 mg/ml getestet (vgl. Abbildungen : 4.2.1.-4.2.11).

4.2.1 Timolol

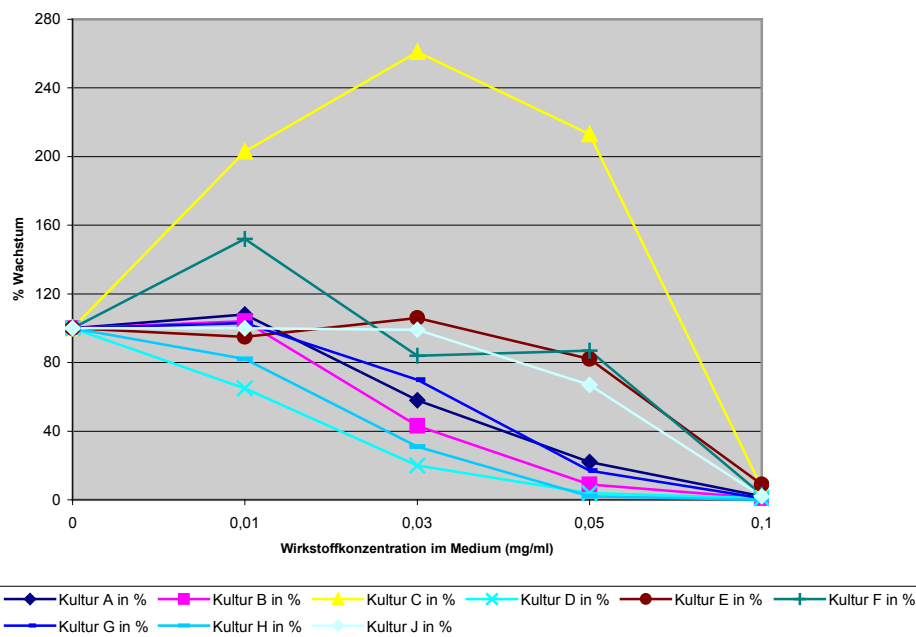


Abbildung 4.2.1. Zellproliferation in Abhängigkeit von der Timolol-Konzentration

Die Abbildung 4.2.1. zeigt das Fibroblastenwachstum unter Timololeinfluß. Bei der niedrigsten Timololkonzentration von 0,01 mg/ml lässt sich bei drei von neuen getesteten Kulturen eine Wachstumsinhibition (18% bis 35%) erreichen. Fünf Kulturen werden in ihrem Wachstum zwischen 3% und 103% stimuliert. Das arithmetische Mittel beträgt hierbei 112% mit einer Standardabweichung von 39%. Bei 0,03 mg/ml Wirkstoff lassen sich sieben Kulturen in ihrem Wachstum hemmen, während die Kulturen E und extrem Kultur C (161%) stimuliert werden. Auch bei 0,05 mg/ml Timolol wird diese Kultur noch um 113% im Wachstum stimuliert, wogegen die anderen acht Kulturen inhibiert werden; drei Kulturen zwischen 13% und 33% und fünf Kulturen zwischen 78% und 98%. Die maximale Inhibition wird bei einer Konzentration von 0,1 mg/ml erreicht und beträgt im Schnitt 97% (mit einer Standardabweichung von 2,9%). Nur dieses Wachstumsverhalten ist mit einem $p < 0,0001$ statistisch signifikant. Es zeigen sich bei 0,03 und 0,05 mg/ml hohe

Standardabweichungen von 68% und 64% vom arithmetischen Mittel (86%/55.9%). Dies lässt sich jedoch vor allem durch das Wachstumsverhalten der Kultur C begründen.

4.2.2 Pilocarpin

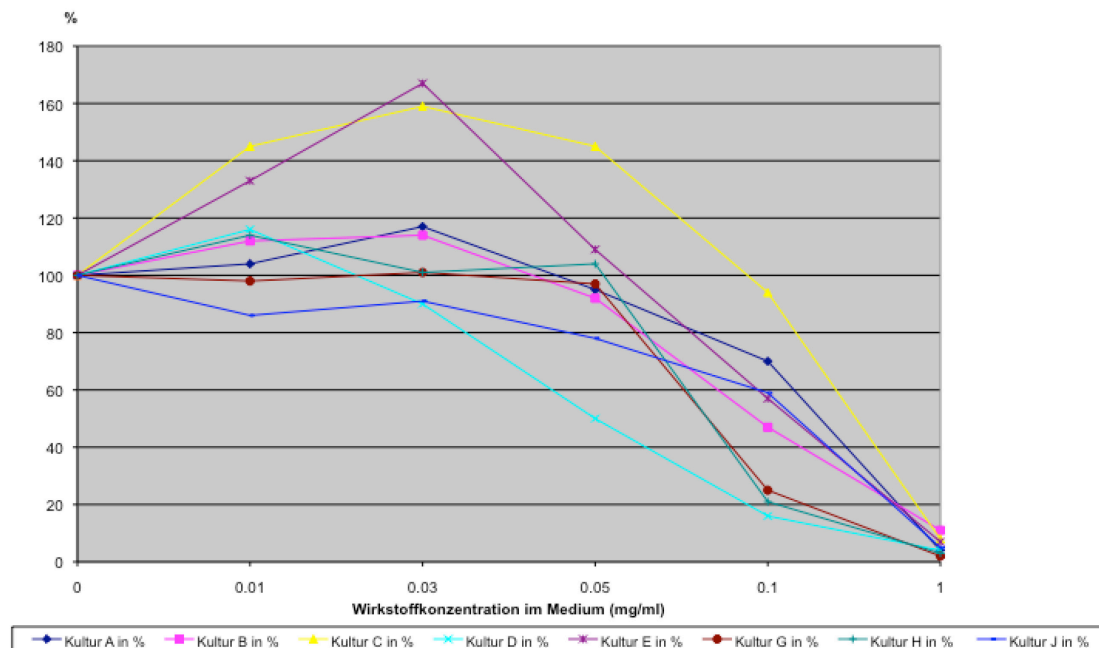


Abbildung 4.2.2. Zellproliferation in Abhängigkeit von der Pilocarpin-Konzentration

Die Abbildung 4.2.2. zeigt das Fibroblastenwachstum unter der Einwirkung von Pilocarpin in fünf ansteigenden Konzentrationen im Vergleich zum Leeransatz (100 %). Bei der geringsten Konzentration von 0,01mg/ml werden zwei Kulturen in ihrem Wachstum um 2% bzw. 14% inhibiert. Die übrigen sechs Kulturen werden in ihrem Wachstum zwischen 4% und 45% stimuliert wobei das Mittel bei 114% liegt. Ein ähnliches Bild zeigt sich auch bei der nächst höheren Konzentration von 0,03 mg/ml: Inhibition von Kultur R und Z (9/10%) und Stimulation der anderen sechs Kulturen im Schnitt bis zu 67%. Bei 0,05 mg/ml werden nur noch drei Kulturen stimuliert (4%-45%) und vier zwischen 3% und 22% und Kultur R sogar um 50 % im Wachstum gehemmt. Erst bei 0,1 mg/ml Pilocarpin gelingt es, alle Zellkulturen in ihrem Wachstum signifikant zu hemmen; wenn auch mit einer sehr weiten Schwankung zwischen 6% und 84% Inhibition und einer Standardabweichung von 25% vom arithmetischen Mittel von 51%. Die maximale Inhibition liegt bei 1mg/ml Wirkstoff und beträgt hier im Durchschnitt 89% bis 98%. Die Standardabweichung beträgt bei 0,01mg/ml und

0,1mg/ml 18% und 25% während sie bei 1mg/ml bei knapp 3% liegt. Hierfür ist vor allem das Wachstumsverhalten von Kultur C und E verantwortlich.

4.2.3 Piroxicam

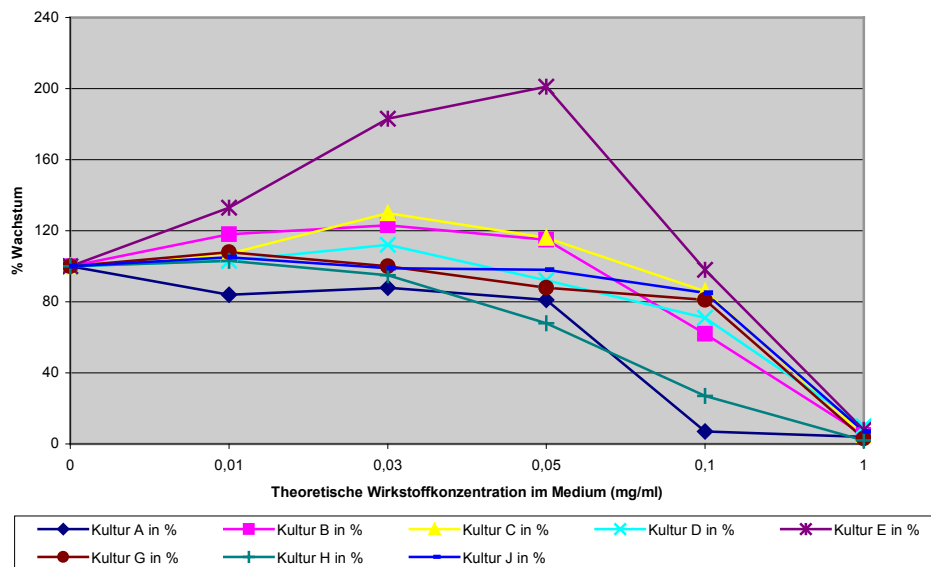


Abbildung 4.2.3. Zellproliferation in Abhängigkeit von der Piroxicam-Konzentration

Die Abbildung 4.2.3. zeigt das Fibroblastenwachstum unter Zugabe von fünf verschiedenen Piroxicam-Konzentrationen. Die Messwerte bei der niedrigsten Wirkstoffkonzentration von 0,01mg/ml lassen in allen Kulturen eine Steigerung des Wachstums von im Mittel 8% (3% bis 33%) erkennen. Nur eine Kultur unterliegt einer Inhibition (16%). Mit Zunahme der Wirkstoffkonzentration nimmt auch die Anzahl der inhibierten Kulturen zu. Bei Konzentration 0,03 mg /ml werden drei Kulturen zwischen 1% und 12% inhibiert, während vier von 12% bis 83% stimuliert werden bei einem mittleren Wachstum von 16%. Bei 0,05 mg/ml sind es bereits fünf im Wachstum gehemmte (2%-32%) Kulturen. Erst bei 0,1mg/ml Piroxicam wird in allen acht Kulturen das Wachstum inhibiert. Die maximale Inhibition von im Schnitt 95% (mit einer Standardabweichung von knapp 3%) wird bei einer Wirkstoffkonzentration von 1 mg/ml erreicht.

Die Standardabweichung beträgt von 0,03 mg/ml bis 0,1mg/ml zwischen 29% und 39%, was vor allen an der reduzierten Wachstumsinhibition der Kultur E liegt.

4.2.4 Verapamil

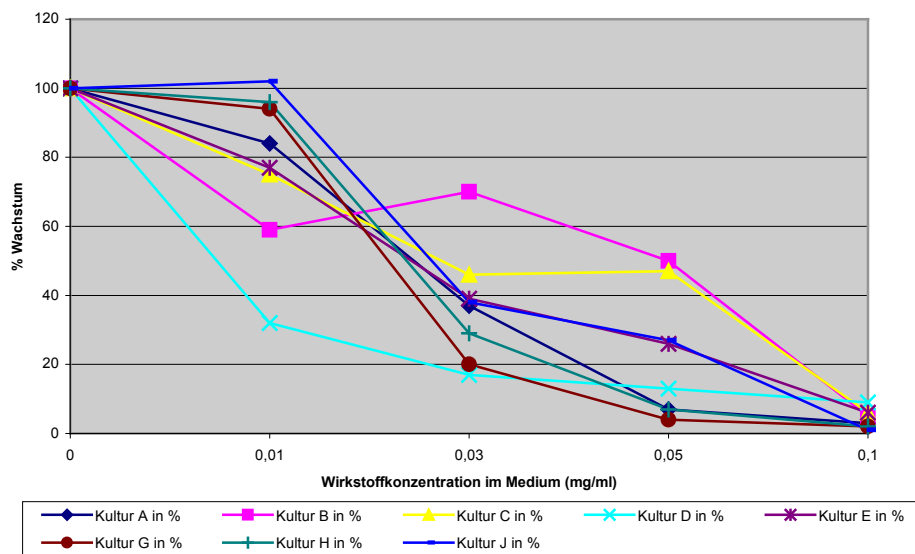


Abbildung 4.2.4 Zellproliferation in Abhängigkeit von der Verapamil-Konzentration

Die Abbildung 4.2.4. stellt die Zellproliferation von Fibroblasten unter der Einwirkung von Verapamil dar.

Schon in der geringsten Konzentration von 0,01 mg/ml Verapamil wird die Wachstumsinhibition in sieben von acht Kulturen sichtbar und beträgt im Schnitt 22% (zwischen 4% und 68%). Die einzige Wachstumssteigerung beträgt 2% in Kultur J.

Eine 50%ige Inhibition wird bei sieben Kulturen bereits bei einer Wirkstoffkonzentration von 0,03mg/ml erreicht und bei einer Konzentration von 0,05mg/ml werden alle Kulturen im Mittel um 77% im Wachstum gehemmt.

Die maximale Inhibition zeigt sich bei der höchsten Verapamildosis von 0,1 mg/ml und liegt im Durchschnitt bei 96% (91% bis 99%).

Die Standardabweichung beträgt bei der Dosis von 0,1mg/ml 3%, wo hingegen sie bei den anderen Dosierungen zwischen 16% und 21% liegt. Alle Messwerte haben eine hohe Signifikanz.

4.2.5 Pentoxifyllin

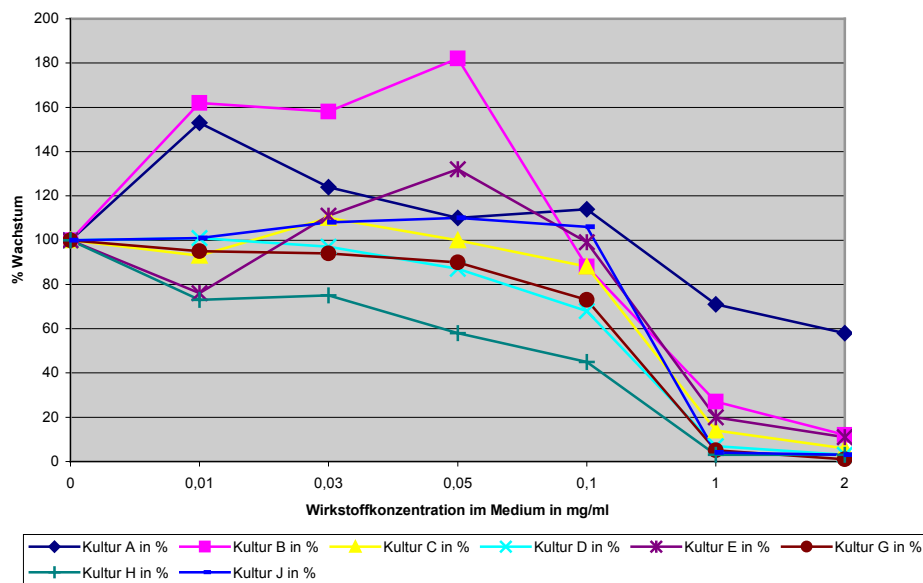


Abbildung 4.2.5 Zellproliferation in Abhängigkeit von der Pentoxifyllin-Konzentration

In Abbildung 4.2.5. wird die Wachstumsinhibition der Fibroblasten unter Einwirkung von Pentoxifyllin gezeigt.

Bei 0,1 mg/ml lässt sich eine Reduktion des Wachstums um 25% und mehr nur bei drei Kulturen H, G und D bewirken. Alle anderen Kulturen lassen sich bis zu dieser Konzentration nur gering im Wachstum hemmen, oder werden sogar im Wachstum stimuliert. Besonders deutlich wird dies bei Kultur B, welche bei Konzentration von 0,01 mg/ml um 61%, und bei 0,05 mg/ml sogar um 82 % stimuliert wird. Erst ab einer Konzentration von 1mg/ml Pentoxifyllin kann ein wachstumshemmender Effekt von über 50 % erzielt werden (im Schnitt 81%). Die maximale Inhibition bei 2mg/ml beträgt im Mittel 88%, wobei sich die Kultur A nur um 42% im Wachstum inhibieren lässt.

Die Standardabweichungen sind relativ einheitlich zwischen 18% und 34% angesiedelt, wobei nur bei den beiden höchsten Wirkstoffkonzentrationen signifikante Werte vorliegen.

4.2.6 Prednisolon

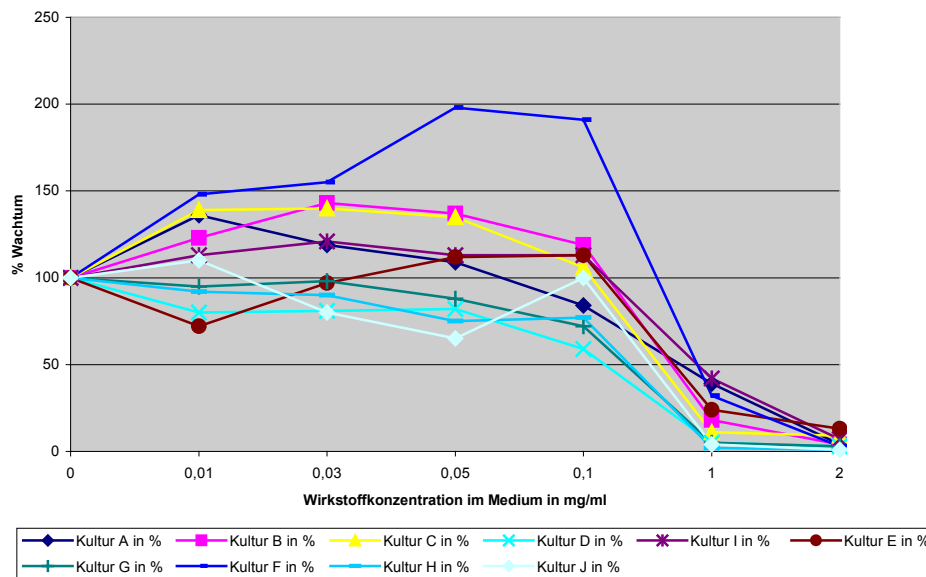


Abbildung 4.2.6. Zellproliferation in Abhängigkeit von der Prednisolon-Konzentration

Die Abbildung 4.2.6. zeigt das Wachstum der Zellen unter der Behandlung mit Prednisolon. Ab einer Konzentration von 1 mg/ml kann bei allen Kulturen eine im Schnitt über 50%ige (im Mittel 80%) Wachstumsinhibition erzielt werden. Die stärkste Inhibition beträgt zwischen 87% und 99% (im arithmetischen Mittel 95%). Sie tritt in allen Kulturen bei einer Prednisolonkonzentration von 2 mg/ml auf.

In Kultur D, H, und J ist eine inhibierende Wirkung schon ab einer Konzentration von 0,03 mg/ml sichtbar; während diese Konzentration in den anderen Kulturen noch eine Stimulation des Wachstums von 20% bis 50% erkennen lässt (im Mittel 16%). Dieses zeigt besonders der Kurvenverlauf der Kulturen A, B, C und F. Die geringste Konzentration von 0,01 mg/ml hat bei sechs der zehn Kulturen noch einen stimulierenden Effekt zwischen 10% und 48% auf die Fibroblastenproliferation.

Die Standardabweichung liegt bei 0,01mg/ml - 0,1mg/ml noch zwischen 25% und 37% wohingegen sie bei 1mg/ml 14% und bei 2mg/ml nur 4% beträgt. Dafür verantwortlich ist unter anderem die stark ausgeprägte Wachstumsstimulation von Kultur F.

Wiederum zeigen nur die beiden höchsten Konzentrationen signifikante Werte.

4.2.7 Methylprednisolon

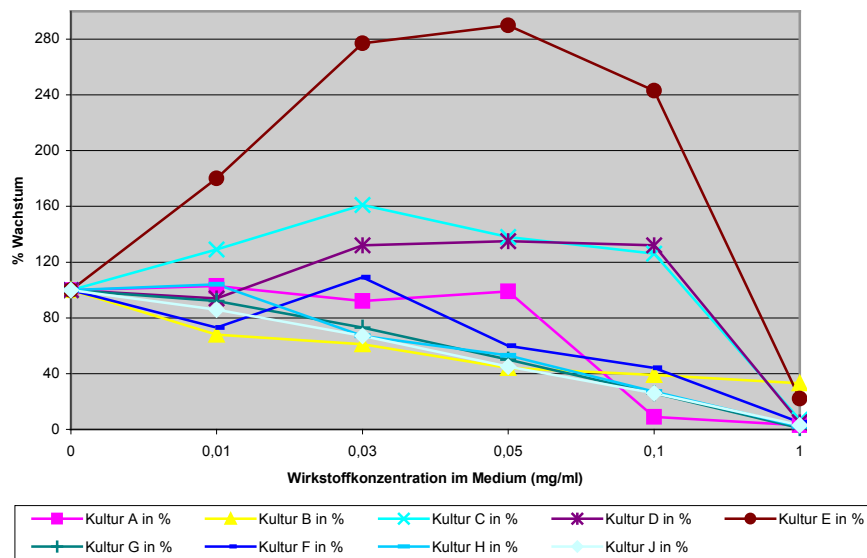


Abbildung 4.2.7. Zellproliferation in Abhängigkeit von der Methylprednisolon-Konzentration

In Abbildung 4.2.7. ist die Zellproliferation unter Einwirkung von Methylprednisolon dargestellt. Bei der niedrigsten Wirkstoffkonzentration von 0,01 mg/ml unterliegen fünf Kulturen der Proliferationsinhibition zwischen 6% und 32% während vier Kulturen im Wachstum um 3% bis 80% stimuliert werden. Bei 0,03 mg/ml sowie bei 0,05 mg/ml nimmt sowohl die durchschnittliche Inhibition (28% bzw. 41%), als auch die Stimulation (70% bzw. 88%) des Wachstums zu. Auch bei einer Methylprednisolonkonzentration von 0,1 mg/ml ist bei drei Kulturen noch eine deutliche Wachstumsstimulation von 26% bis 143% zu verzeichnen (im Mittel 26%). An diesem Punkt werden die anderen sechs Kulturen zwischen 56% und 91% gehemmt. Erst bei 1 mg/ml Wirkstoff kann bei allen neun Kulturen eine Wachstumsinhibition erreicht werden. Sie beträgt im Durchschnitt 91% (67% bis 99%). Dieses uneinheitliche, nicht signifikante Wachstumsverhalten der einzelnen Kulturen zeigt die Standardabweichungen von 75% und 73% bei den Konzentrationen 0,05 mg/ml und 0,1mg/ml, und liegt bei 1mg/ml noch immer bei 10%.

4.2.8 Dexamethason

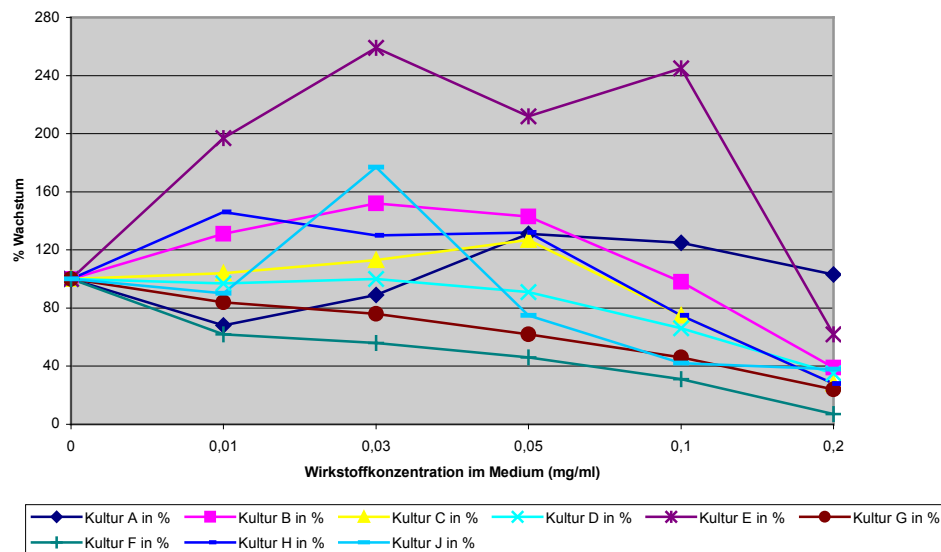


Abbildung 4.2.8. Zellproliferation in Abhängigkeit von der Dexamethason-Konzentration

In Abbildung 4.2.8. wird das Fibroblastenwachstum unter Einwirkung von sechs ansteigenden Konzentrationen Dexamethason gezeigt.

Bei fünf von neun Kulturen lässt sich das Wachstum bei einer Wirkstoffkonzentration von 0,01 mg/ml um 3% bis 38% inhibieren, während es bei dieser Konzentration in den anderen vier Kulturen stimuliert wird. Die Stimulation beträgt hier in Kultur E 97% und steigert sich bis zu 159% bei einer Dexamethasonkonzentration von 0,03mg/ml.

Insgesamt lässt sich überwiegend eine Stimulation des Zellwachstums bis zu einer Wirkstoffkonzentration von 0,1 mg/ml verzeichnen. Und nur bei einer Dexamethasonkonzentration von 0,2 mg/ml lässt sich eine Inhibition bei mehr als sieben Kulturen erkennen. Auch bei dieser Konzentration beträgt die stärkste Inhibition nur 69%, und Kultur A liegt im Wachstum weiterhin bei 3% über dem Leeransatz.

Auch die Standardabweichungen sind somit recht hoch und liegen zwischen 40% und 62% und nur bei 0,2 mg/ml bei noch immer hohen 26%. Für diese hohen Werte ist vor allem das Wachstumsverhalten von Kultur E verantwortlich. Eine Signifikanz der Werte zeigt sich nur bei 0,2 mg/ml.

4.2.9 Hydrocortison

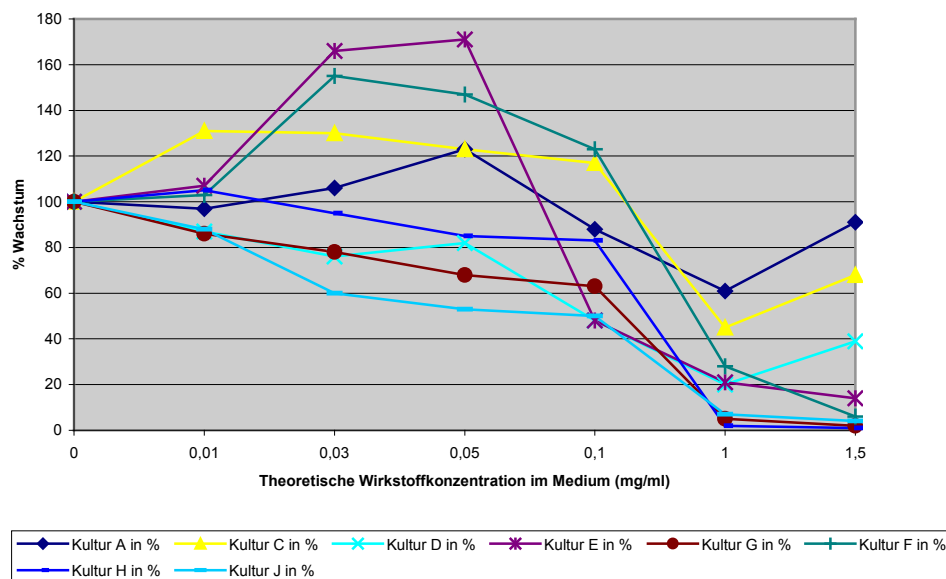


Abbildung 4.2.9. Zellproliferation in Abhängigkeit von der Hydrocortison-Konzentration

In Abbildung 4.2.9. ist die Zellproliferation unter der Zugabe von Hydrocortison abgebildet. Bei der geringsten Wirkstoffkonzentration von 0,01 % werden vier Kulturen zwischen 3% und 14% im Wachstum inhibiert, während die anderen vier zwischen 3% und 31% stimuliert werden. Ebenso verhält es sich bei den nächst höheren Konzentrationen von 0,03mg/ml und 0,05mg/ml, wobei sowohl die Stimulation als auch die Inhibition der Kulturen stärker ausgeprägt sind (Stimulation zwischen 6% und 66% bzw. 23% und 71%; Inhibition zwischen 5% und 40% bzw. 15% und 47%). Bei 0,1mg/ml werden nur noch zwei Kulturen um 17% und 23% stimuliert und bei 1 mg/ml unterliegen alle Kulturen der Wachstumsinhibition von im Mittel 76% (39% bis 98%). Bei dieser Wirkstoffkonzentration ist die Inhibition maximal ausgeprägt, denn bei 1,5 mg/ml Hydrocortison steigt das Wachstum in drei Kulturen im Vergleich zum vorherigen Wert wieder zwischen 18% und 30% an. Eine Wachstumsinhibition aller Kulturen um 50% ist nicht möglich.

Dies zeigt auch die Standardabweichung, welche abgesehen von 14% bei 0,01mg/ml und 19% bei 1mg/ml Wirkstoffkonzentration bei allen Konzentrationen über 24% liegt. Die Konzentrationen 0,1mg bis 1,5mg zeigen signifikante Werte.

4.2.10 Momethason

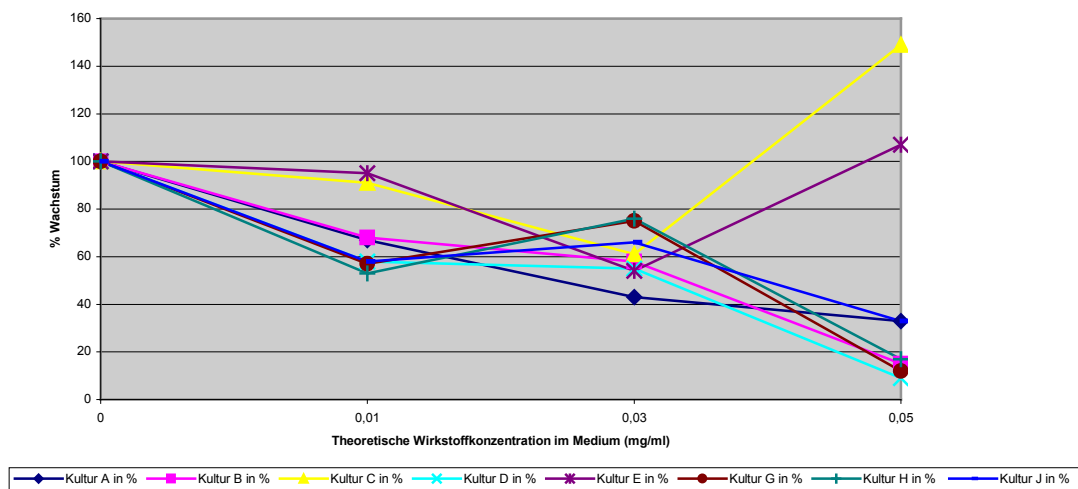


Abbildung 4.2.10. Zellproliferation in Abhängigkeit von der Momethason-Konzentration

In Abbildung 4.2.10. wird die Proliferation der Fibroblasten nach Behandlung mit Momethason dargestellt. In der geringsten Konzentration von 0,01 mg/ml werden alle Zellkulturen in Ihrem Wachstum zwischen 5% und 47% gehemmt. Ebenso findet auch bei einer Wirkstoffkonzentration von 0,03 mg/ml eine Wachstumsinhibition von im Mittel 39% statt. Bei der nächst höheren Momethasonkonzentration hingegen werden zwei Kulturen in ihrem Wachstum um 7% und 47% stimuliert. Eine komplette Inhibition um durchschnittlich 50% kann somit nicht erzielt werden und die maximale Inhibition liegt daher bei 0,03 mg/ml Momethason.

Für die hohe Standardabweichung von 46% bei 0,05 mg/ml Wirkstoffkonzentration sind erneut die Kulturen C und E verantwortlich. Alle Konzentrationen zeigten signifikante Wachstumswerte.

4.2.11 Gesamtübersicht der Wirkstoffe

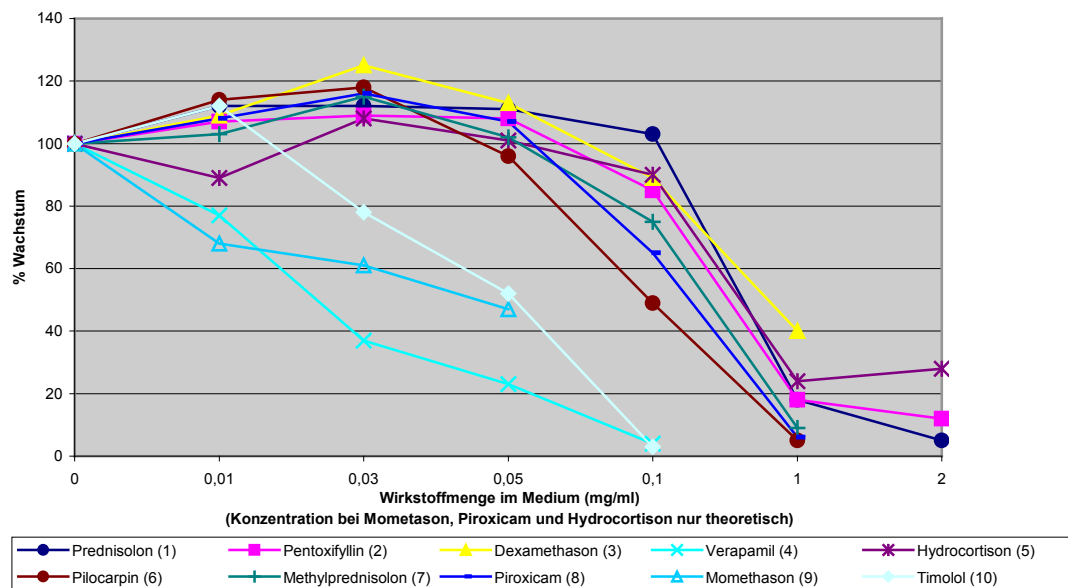


Abbildung 4.2.11. Zellwachstum in Abhängigkeit von der Medikamentenkonzentration

In der Abbildung 4.2.11. ist eine Gesamtübersicht aller Medikamente und das Zellwachstum unter den verschiedenen Medikamentenkonzentrationen dargestellt. Bei Verapamil und Momethason ist schon in der geringsten Konzentration von 0,01 mg/ml eine Wachstumsinhibition zu erkennen (im Schnitt 23% bzw. 32%). Diese setzt sich bei steigender Medikamentenkonzentration stetig fort. Unter Momethason in seiner Maximalkonzentration von 0,05 mg/ml werden die Zellen um durchschnittlich 53% in ihrem Wachstum inhibiert. Unter Verapamil in seiner höchsten Konzentration von 0,1 mg/ml werden die Zell hingegen sogar um durchschnittlich 96% im Wachstum gehemmt. Auch bei Timolol ist ein ähnlicher Effekt zu verzeichnen. Nach einer primären Wachstumsstimulation um im Mittel 12%, kommt es zu einer stetigen Inhibition des Wachstums mit steigender Medikamentenkonzentration. Die Inhibition erreicht ihr Maximum bei der höchsten Konzentration von 0,1 mg/ml mit im Schnitt 97%.

Der Verlauf des Wachstumsverhaltens der Fibroblasten unter den Medikamenten Prednisolon, Pilocarpin, Pentoxifyllin, Methylprednisolon, Dexamethason, Piroxicam und Hydrocortison ähnelt sich sehr stark. Bei geringen Wirkstoffkonzentrationen kommt es zunächst zu einer Stimulation des Wachstums. Erst bei der Konzentration von 0,1 mg/ml kommt es zu einer Inhibition – während bei Prednisolon auch hier noch ein

gesteigertes Wachstum zu erkennen ist. Außer bei Hydrocortison liegt bei allen Wirkstoffen die maximale Wachstumsinhibition bei der maximalen Wirkstoffkonzentration. Bei Hydrocortison wird bei 2,0 mg/ml eine geringere Wachstumsinhibition (im Mittel 72%) erreicht, als bei 1,0 mg/ml (im Mittel 76%).

5. Diskussion

Die Pathogenese der Polyposis nasi ist multifaktoriell bedingt und bis heute weitgehend unbekannt. Die Patienten erleben einen hohen Leidensdruck und die Therapieoptionen sind oft unzureichend. Konservative Therapiemaßnahmen zeigen nur eine sehr geringe oder unbefriedigende Wirkung. Sie greifen nicht in die, dem Polypen zugrundeliegenden Prozesse ein, sondern wirken nur symptomlindernd. Die chirurgische Sanierung bringt dem Patienten Erleichterung, die hohe Rezidivrate und begleitende Komplikationen zeigen aber auch hier Schwachstellen auf.

Die Fibroblastenproliferation gilt als wichtiger Bestandteil der Polypenbildung, es gibt jedoch bisher keine Therapieform, die hier ansetzt.

In der vorliegenden Arbeit gingen wir der Frage nach, ob ex vivo kultivierte Fibroblasten in ihrer Proliferation durch verschiedene Substanzen zu beeinflussen sind. Hierbei wurden übliche Polyposis-Medikamente, sowie Substanzen aus alternativen Therapieansätzen verwendet.

Wir konnten bei allen Substanzen konzentrationsabhängige Effekte auf die Fibroblastenproliferation feststellen. Der inhibitorische Effekt war bei Verapamil und Mometason am stärksten ausgeprägt.

Aufgrund der limitierten Zellzahl und der nicht beliebig wiederholbaren Messungen konnten bei den Experimenten weder das gesamte Konzentrationsspektrum noch alle primär ausgewählten Substanzen untersucht werden.

Wegen der geringen Fallzahlen wurde nur eine arithmetische Mittelung mit Berechnung der Standardabweichung und eine Signifikanzberechnung mittels T-Test durchgeführt, ohne ein weiteres statistisches Modell zugrunde zu legen und Konfidenzintervalle zu berechnen. Dadurch sind die Standardabweichungen mitunter recht hoch, die Werte zum Teil nicht signifikant und somit nur begrenzt aussagekräftig.

Erwartungsgemäß wurde bei allen Wirkstoffen die maximale Proliferationsinhibition bei Verwendung der maximalen Wirkstoffkonzentration erreicht.

Bei Verapamil und Mometason war schon bei der niedrigsten verwendeten Konzentration von 0,01 mg/ml eine signifikante durchschnittliche Wachstumsinhibition von 23+/-21% bzw. 32+/-15% zu erkennen. Bei Verwendung der maximalen Konzentrationen (0,1 mg/ml) konnte eine Hemmung von im Mittel 96% erreicht

werden. Der β -Blocker Timolol verhielt sich ähnlich, bei der niedrigsten Dosierung konnte noch eine Wachstumsstimulation festgestellt werden, unter der maximalen Dosierung (0,1 mg/ml) sahen wir jedoch auch hier eine Inhibition des Wachstum von im Schnitt 97%.

Das Wachstumsverhalten der Fibroblasten unter der Medikation mit Prednisolon, Pilocarpin, Pentoxifyllin, Methylprednisolon, Dexamethason, Piroxicam und Hydrocortison ähnelte sich sehr stark. Bei geringen Wirkstoffkonzentrationen kam es zunächst zu einer Stimulation des Wachstums, in höheren Konzentrationen trat eine Inhibition des Wachstums auf, die bei allen Wirkstoffen ihr Maximum bei Verwendung der höchsten Konzentration erreichte.

Diese Ergebnisse müssen unter Berücksichtigung bisheriger Ergebnisse aus der Literatur diskutiert werden.

In unseren Experimenten gehörte Verapamil zu den potentesten Inhibitoren der Fibroblastenproliferation, bereits in einer Konzentration von 0,01mg/ml wurde das Wachstum im Durchschnitt signifikant um 23% gehemmt.

Verapamil als Calcium-Kanal-Blocker wird regulär in der antihypertensiven Therapie eingesetzt.

Durch Calciumkanäle wird die zytosolische Calciumkonzentration reguliert. Steigt sie, so sorgt dies für eine erhöhte Kontraktilität kardialer und vaskulärer glatter Muskelzellen. Es werden spannungsgesteuerte Ca-Kanäle (VOCC = Voltage Operated Calcium Channels) und rezeptorgesteuerte Ca-Kanäle (ROCC = Receptor Operated Calcium Channels) unterschieden. Bekannt sind vier Arten von VOCC: L-, T-, P-, N-Kanäle. Die bisherigen Calciumantagonisten (Verapamil, Diltiazem, Dihydropyridine) blockieren die L-Kanäle.

Das Calcium Kation spielt eine zentrale Rolle in der Proliferation sämtlicher Zelltypen einschliesslich der Fibroblasten. Kang et al [51] zeigten, dass Calciumkanalblocker (Verapamil, Diltiazem, Nicardipin und Trifluoperazine) das Wachstum von Fibroblasten inhibieren.

In einer Studie der Universität Bonn konnte das Wachstum von human umbilical arterial endothelial cells durch Verapamil gehemmt werden. Bereits 50 Mikromol verhinderten, dass basic fibroblast growth factor ausgeschüttet wurde, so dass kein Wachstum mehr stattfand. Verapamil wirkt über einen Zellarrest zwischen der Go und G1 Phase [78]. Anderson et al [76] konnten in einer Untersuchung mit Zellen der Tunica albuginea eine

Inhibition des Fibroblastenwachstums unter Verapamil von $65,2 \pm 10,6\%$ bei einer Konzentration von 10mg/ml feststellen.

Verapamil zeigt im klinischen Einsatz gute Verträglichkeit bei den Patienten. Es zeigt eine vergleichbare Wirkung auf das Fibroblastenwachstum wie Mometason, welches zu den herkömmlichen Polyposismedikamenten zählt. Die inhibierende Wirkung auf das Fibroblastenwachstum liess sich im Mittel schon bei einer Dosis von 0,01mg/ml deutlich erkennen, so dass hier eventuell eine gute Therapiealternative bestünde.

Aufgrund der Nebenwirkungen wie AV-Blockierungen bis zur Asystolie und sogar Todesfälle, welche bei Intoxikation schon aufgetreten sind, muss der neue Einsatz zur Therapie der Polyposis jedoch überdacht werden.

Der von uns verwendete β -Blocker Timolol zeigte ebenfalls eine starke Wachstumsinhibition.

β -Blocker finden Verbreitung in der Therapie der Hypertonie, als Antianginosa und Antiarrhythmika. Die Gabe beim akuten Myocardinfarkt wie auch zur Sekundärprophylaxe ist prognostisch günstig. Eine vergleichsweise neuere Indikation für β -Blocker ist die Herzinsuffizienz.

Die Existenz von β -adrenergen Rezeptoren auf Fibroblasten ist gesichert [89; 54] und erklärt den antiproliferativen Effekt.

Williams et al [53] zeigten, dass β -Blocker in vitro einen inhibierenden Effekt auf das Wachstum von Fibroblasten haben, welcher auch nach Auswaschen des Medikaments nicht reversibel war. Auch Hussain et al [54] zeigten, dass der β -Blocker Penbutolol cytotoxisch auf Fibroblasten wirkt, indem er einen Bruch des DNA-Stranges induziert. In unseren Untersuchungen wurde die maximale Wachstumsinhibition bei einer Konzentration von 0,1 mg/ml erreicht und betrug signifikant zwischen 91% und 100%.

In einer Studie von Wu KY [86] wurden Fibroblasten aus der Tenonschen Kapsel mit β -Blockern inkubiert, allerdings nur in Kombination mit Pilocarpin, dies zeigte eine Inhibition des Zellwachstums um 55% bei einer Konzentration von 0,00025%. Gerade in der Augenheilkunde wird der Effekt der in den antiglaukomatösen Augentropfen enthaltenen Konservierungsstoffe auf die Fibrosierung heftig diskutiert. Studien zeigten,

dass β -Blocker wie Betaxolol, Levobunol und Timolol einen inhibitorischen Effekt auf die Fibroblasten der Tenonschen Kapsel haben, der weniger stark ausgeprägt ist, wenn dem Präparat Konservierungsstoffe beigesetzt sind [53].

Ebenso wie andere lokal verabreichte Präparate kann dieses Arzneimittel systemisch resorbiert werden. Bei lokaler Verabreichung können die gleichen unerwünschten Wirkungen auftreten wie bei systemischer Gabe von Betablockern. Zu diesen gehören unter anderem psoriasiforme Hautausschläge oder Exazerbation von Psoriasis, sowie Bronchospasmus vor allem bei vorbestehendem bronchospastischem Leiden. Da die Polyposis gelegentlich in Kombination mit Asthma bronchiale oder anderen allergischen Erkrankungen auftritt, ist der therapeutische Einsatz dadurch eingeschränkt. Abgesehen davon, stellt es eine gute alternative Therapiemethode im Vergleich zu den bisherigen Therapien dar.

Pilocarpin gehört zu den direkten Parasympathomimetika (muscarine Agonisten). Diese wirken auf die muskarinergen Cholinrezeptoren (in den Synapsen des postganglionären Neurons) der parasympathisch innervierten Erfolgsorgane agonistisch und analog dem Acetylcholin. Nach Bindung an den Rezeptor werden G-Protein vermittelte Effekte induziert, wie zum Beispiel eine verlängerte AV-Überleitung am Reizleitungssystem des Herzen, was zu einer Bradycardie führt. Ebenso führen sie zu einer geringen Gefäßdilatation mit der Folge eines Absinken des Blutdrucks, vermehrter Speichel- und Magensaftsekretion sowie Zunahme der Darmperistaltik bis zum Spasmus. Acetylcholin selbst wird aufgrund der schnellen Inaktivierung therapeutisch nicht verwendet.

In unseren Versuchen steigerte eine geringe Pilocarpindosis das Wachstum signifikant um 14% und gelang es erst bei 0,1 mg/ml Pilocarpin, alle Zellkulturen in ihrem Wachstum signifikant zu hemmen; das arithmetische Mittel betrug 52% Inhibition, wenn auch mit einer sehr weiten Schwankung zwischen 6% und 84%. Die maximale Inhibition lag bei 1mg/ml Wirkstoffmenge und betrug hier im Schnitt $95 \pm 2,8\%$ bei hochsignifikanten Werten.

Cunlife IA et al [55] beschreiben ebenfalls einen inhibitorischen Effekt von Pilocarpin auf das Fibroblastenwachstum, ohne genaue Werte anzugeben. Sie untersuchten die Wirkung von Pilocarpin in verschiedenen Konzentrationen auf Fibroblasten der humanen Tenon Kapsel und fanden bei drei Konzentrationen einen inhibitorischen

Effekt auf die Proliferation, sowie in allen Konzentrationen einen toxischen Effekt auf die Zellmorphologie.

In der bereits oben zitierten Studie von Wu KY [86] zeigten sich Unterschiede zwischen kommerziell verwendeten Pilocarpin Augentropfen. Diese stimulierten das Fibroblastenwachstum dosisabhängig um bis zu 171% bei einer Konzentration von 0,002%, und reinem Pilocarpin. Bei einer Konzentration von 0,02% reinem Pilocarpin wurde das Wachstum dagegen um 84% gesenkt.

Bei asthmatischen Patienten kann Pilocarpin den Luftwegwiderstand erhöhen durch eine Steigerung des glatten bronchialen Muskeltonus und kann ein vermehrtes Ausscheiden von Bronchialsekret zur Folge haben.

Aus diesem Grund sollte es bei Patienten mit chronisch-obstruktiver Lungenerkrankung nur mit Vorsicht angewendet werden, was seinen Einsatz als alternatives Therapeutikum, bei ohnehin uneinheitlichen Versuchsergebnissen, deutlich einschränkt.

Unsere Versuchsergebnisse mit dem nicht steroidal Antirheumatikum Piroxicam zeigten ein sehr einheitliches Bild.

Nicht-steroidale Antirheumatika (NSAR) [= NSAID: non steroidal anti-inflammatory drugs] hemmen die Cyclooxygenase und bewirken so eine Reduktion der Prostaglandinsynthese (die Leukotriensynthese bleibt unbeeinflusst). Prostaglandinsynthesehemmer haben drei Wirkungen unterschiedlicher Ausprägung: Analgesie, Antipyrese, und Antiphlogistik. Prostaglandine selbst sind nicht die schmerzauslösende Substanz, sie steigern jedoch die Empfindlichkeit der Schmerzrezeptoren und wirken dadurch hyperalgetisch.

Pyrogene führen über eine Prostaglandin E₁ -Synthese zu einem Anstieg der Körpertemperatur.

Prostaglandine gehören neben Leukotrienen und den Entzündungsmediatoren Bradykinin und Histamin zu den entzündungsauslösenden Substanzen. Daher besitzen NSAR einen antiphlogistischen Effekt.

Von der Cyclooxygenase (COX) wurden bisher zwei Isoenzyme (COX-1 und COX-2) nachgewiesen. Während die COX-1 rein physiologische Effekte in gesundem Gewebe induziert, ist die Funktion der COX-2 vielschichtiger. Sie wird sowohl durch Entzündungsreize als auch durch physiologische Adaptationsvorgänge induziert. Sie

beeinflusst unter anderem die Wundheilung, die Weheninduktion und die Nierendurchblutung.

Einige COX-Inhibitoren wirken selektiv über Inhibition der COX-1, andere inhibieren hauptsächlich die COX-2.

Nguyen et al [56, 60] prüften bereits 1992 die antiproliferative Wirkung von verschiedenen COX-Inhibitoren - Diclofenac, Flurbiprofen, Piroxicam und Suprofen – auf humane Fibroblasten der Tenon Kapsel. Sie konnten zeigen, dass Fibroblasten nach Inkubation mit diesen Medikamenten in ihrer Adhäsion und der Proliferation gehemmt werden und zwar mit einer ähnlichen Potenz wie Steroide. Die verwendeten Dosen und Inhibitionsgrade waren hingegen variabel.

Dies konnte durch eine Studie von Rawlins et al [96] mit Fibroblasten, welche aus Verbrennungsnarben stammten, bestätigt werden. Sie zeigten eine dosisabhängige Inhibition des Wachstums unter Verwendung von Photographie und Bildanalysen.

Unsere Untersuchungen unterstützen diese Ergebnisse. Die Messwerte bei einer Wirkstoffkonzentration von Piroxicam (0,1mg/ml) lassen in allen Kulturen eine signifikante Inhibition des Wachstums erkennen, die Maximalwerte liegen im Schnitt bei 95+/- 3% und werden bei einer Wirkstoffkonzentration von 1 mg/ml erreicht.

In einer Studie von Sanches et al [88] konnte gezeigt werden, dass auch der Cyclooxygenaseinhibitor Ketoprofen einen inhibitorischen Effekt auf das Wachstum von Fibroblasten hat. Mit einer Dosis, welche hemmend auf die Prostaglandinsynthese wirkt, konnte auch eine Inhibition des Fibroblastenwachstums festgestellt werden, welche mit den Effekten auf die Prostaglandinproduktion korrelierte.

Da Gastrointestinale Ulzerationen, Blutungen oder Perforationen während der Behandlung mit nicht-steroidalen Antirheumatika jederzeit auch ohne Warnsymptome auftreten können, sollte diese Nebenwirkung nicht ausser Acht gelassen werden. Dies könnte den Langzeit Einsatz als neues Therapeutikum einschränken.

In der Pharmakotherapie der Durchblutungsstörungen in venösen und arteriellen Gefässen, insbesondere bei der Therapie der peripheren arteriellen Durchblutungsstörungen und der neuro-otologischen Durchblutungsstörungen, werden unter anderem Hämorrheologika wie Pentoxifyllin eingesetzt. Hämorrheologika sind Phosphodiesteraseinhibitoren und senken die Blutviskosität. Sie steigern die Erythrozytenverformbarkeit und hemmen die Aggregation von Thrombozyten. Sie

verbessern dadurch die Mikrozirkulation und Oxygenierung des Gewebes. Pentoxifyllin wirkt über eine Inhibition der fibroblast-growth-factor-2-Synthese und gleichzeitig über eine Inhibition der Kollagen I -Synthese.

In unseren Untersuchungen zeigte sich bei Inkubation der Zelllinien mit 1mg/ml Pentoxifyllin ein signifikant wachstumshemmender Effekt von durchschnittlich über 50%. Die maximale Inhibition wurde bei einer Konzentration von 2mg/ml erreicht und lag im Mittel signifikant bei $88 \pm 18\%$.

Strutz F et al [57] fanden bei Untersuchungen mit renalen Myofibroblasten eine dosis- und zeitabhängige Inhibition der Zellproliferation (Maximum $78,9 \pm 6,2\%$ bei $500 \mu\text{g/ml}$), der extrazellulären Matrixsynthese sowie der myofibroblastären Differenzierung und antizipierten, dass dieser Effekt über die Inhibition der FGF-2-Synthese zustande kommt. Ähnliche Ergebnisse zeigten sich in einer Studie am Royal Melbourne Hospital in Melbourne von Hewitson et al [87]. Die Inkubation von renalen Myofibroblasten mit dem Phosphodiesteraseinhibitor Pentoxifyllin in Konzentrationen 1, 10 und $100 \mu\text{g/ml}$ führte zu einer signifikanten Inhibition des Wachstums, wobei der Effekt nach Entfernung des Medikaments reversibel war.

Auch Berman et al [97] konnten in einer Studie mit Fibroblasten aus menschlicher Haut zeigen, dass das Wachstum der Fibroblasten durch Pentoxifyllin konzentrationsabhängig reduziert wird. Ebenso zeigten sie, dass sich die Kollagenaseaktivität verdoppelte, was zu einer erheblichen Reduktion von Kollagen und Fibronectin führte.

Nebenwirkungen von Pentoxifyllin wie Juckreiz, Hautrötung und Urtikaria werden gelegentlich beobachtet. Selten treten sogar anaphylaktische/anaphylaktoide Reaktionen mit angioneurotischem Oedem, Bronchospasmus auf, was im Allgemeinen aber erst bei hohen Dosierungen der Fall ist. Somit könnte Pentoxifyllin durchaus eine neue Therapieoption darstellen, wobei berücksichtigt werden muss, dass eine deutliche Wachstumsinhibition erst bei Wirkstoffkonzentrationen um 1mg/ml erreicht werden konnte.

Unsere Versuche mittels Glukokortikoidinkubation der Fibroblasten zeigten ein uneinheitliches Bild.

Cortison und Cortisol sind physiologische Glukokortikoide. Sie werden in zirkadianer Rhythmik in der Nebennierenrinde gebildet. Zwischen 6 und 8 Uhr ist die Plasmakonzentration am höchsten, während zwischen 18 und 24 Uhr der Spiegel am niedrigsten ist. Die Produktion unterliegt dem Hypothalamisch-Hypophysären-Regelkreis. Im Hypothalamus wird Cortikotropin-Releasing-Factor (CRF) gebildet, welches durch Stress – körperliche Belastung, Infektionen, Operationen - induziert wird und einem zirkadianen Rhythmus unterliegt. CRF induziert die Bildung von Adrenocorticotropem Hormon (ACTH) in der Adenohypophyse. ACTH stimuliert die Bildung von Cortisol in der Nebennierenrinde. Dieser Regelkreis unterliegt einer negativen Feedback-Hemmung durch die Glukokortikoide selbst. Erniedrigte Cortisolspiegel fördern die Ausschüttung von CRF und ACTH, hohe Spiegel inhibieren die Ausschüttung.

Physiologische Glukokortikoide werden von synthetischen Glukokortikoiden unterschieden. Prednisolon und Prednison weisen im Unterschied zu anderen Substanzen eine mineralokortikoide Restwirkung auf. Sowohl in der Wirkstärke, als auch in der Wirkdauer bestehen deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Substanzen, was in einer unterschiedlichen Rezeptoraffinität und Plasmahalbwertszeit begründet liegt [58]. Um eine verlängerte und gesteigerte Wirkung zu erreichen, werden Methyl- oder Fluorgruppen in Position 6a, 9a und 16a an das Steroidgrundgerüst gekoppelt. Die Wirkspektren der Glukokortikoide sind komplex.

Glukokortikoide sind für die Energiebereitstellung zuständig, indem sie Gluconeogenese und Lipolyse fördern.

Sie haben einen antiphlogistischen Effekt, da sie die Synthese von Entzündungsmediatoren durch Blockade der Arachidonsäurefreisetzung und Reduktion von Prostaglandinen und Leukotrienen hemmen können.

Durch Reduktion der Lymphozytenzahl und ihrer Funktion wirken sie immunsuppressiv und antiallergisch.

Wach et al inkubierten humane Keratinozyten und Fibroblasten mit Glukokortikoiden und konnten eine dosisabhängige Hemmung des Zellwachstums von Fibroblasten und Keratinozyten [59] ebenso wie Nguyen et al [60] zeigen.

Auch das Steroid Momethason inhibierte in unseren Versuchen das Zellwachstum bereits in der niedrigsten Dosierung von 0,01 mg/ml signifikant um 32+/-15%.

Momethason ist ein neusynthetisiertes Glukokortikoid (9,21-Dichlor-11beta,17-dihydroxy-16alpha-methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion), das weniger Nebenwirkungen verspricht. In einer Studie von Wach et al [59] wurden antiinflammatorische und antiproliferative Effekte von Momethason mit denen von konventionellen fluorinierten Glukokortikoiden verglichen. Es zeigte sich, dass Momethason in der niedrigsten verwendeten Dosierung von 10^{-9} M im Gegensatz zu der herkömmlichen Glukokortikoiden so gut wie keinen Einfluss auf das Wachstum hatte; erst in höheren Konzentrationen wurde das Wachstum der Fibroblasten und Keratinozyten inhibiert. In einer Dosierung von 10^{-3} M war Momethason zumindest teilweise in der Lage, die Kontraktion von Kollagengelen zu verhindern. Momethason zeigt jedoch eine hohe antiinflammatorische Potenz. In unseren Versuchen zeigte sich Momethason als einer der potentesten Wachstumsinhibitoren.

Das Vorhandensein von Glukokortikoidrezeptoren auf Fibroblasten ist gesichert [79, 80] und erklärt auch, wie die weiteren verwendeten Glukokortikoide das Fibroblastenwachstum beeinflussen: Prednisolon, Methylprednisolon, Dexamethason, Hydrocortison.

Bei der Verwendung von Prednisolon und Methylprednisolon stellten wir in niedrigen Dosierungen uneinheitliche Effekte fest. Manche Kulturen wurden in ihrem Wachstum leicht inhibiert, während andere stimuliert wurden. Erst ab einer Konzentration von 1 mg/ml konnten wir bei allen Kulturen eine über 50% ige Wachstumsinhibition erzielen. Für Prednisolon lag die stärkste Inhibition im Mittel bei 95+/-3% bei einer Konzentration von 2 mg/ml. Methylprednisolon inhibierte die Proliferation in einer Konzentration von 1 mg/ml im Mittel signifikant um 91+/-10%.

In der Literatur finden sich Untersuchungen über die Effekte von Prednisolon 21-phenylacetat auf Keratinozyten und Fibroblasten aus humaner Vorhaut. Hier konnte nur in geringem Ausmaß ein negativer Effekt auf das Zellwachstum festgestellt werden [79]. Rudack et al [81] inkubierten Zellen aus Nasenpolypen mit Prednisolon in verschiedenen Konzentrationen und konnten dosisabhängig eine signifikante Reduktion der Eosinophilen und der Gesamtzahl an vitalen Zellen aufzeigen. Ebenso konnten sie zeigen, dass Prednisolon die Spiegel von granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) und IL-5 senkt, während die Synthese von IL-3 unbeeinflusst blieb.

Furze et al [98] bestätigten dies in einer vergleichenden Studie von Dexametason und Methylprednisolon, in welcher sie Fibroblasten aus Ganglienzellen mit diesen Medikamenten inkubierten. Auch sie zeigten, dass das Fibroblastenwachstum deutlich reduziert wurde; wobei Dexamethason (0.02 mg/ml) eine stärkere Wachstumsinhibition zeigte, als Methylprednisolon (0.5 mg/ml) verglichen mit der Kontrollgruppe ($p < 0.001$). Unsere Ergebnisse für Dexamethason zeigten bei einer Wirkstoffkonzentration von 0,01 mg/ml bei einigen Kulturen eine Inhibition zwischen 3 und 38%. Dies stimmt mit einer Untersuchung von Sun R et al [82] überein, in der ebenfalls eine dosisabhängige Inhibition der Fibroblastenproliferation durch Dexamethason gezeigt werden konnte. Die Inhibition konnte durch Umsetzen der Zellen in wirkstofffreies Medium wieder aufgehoben werden. Inkubation von orbitalen Fibroblasten mit Dexamethason führte laut einer Studie von Muhlberg T [80] zu dosisabhängigen Senkung von IL-1 Ribonukleinsäure.

Diesen Ergebnissen stehen allerdings Untersuchungen von Li S et al [83] und Albrecht M et al [84] entgegen, die jeweils eine Steigerung des Fibroblastenwachstums nach Inkubation der Zellen mit Dexamethason fanden. Auch die Expression des Fibronectingens wurde durch hohe Gaben von Dexamethason (10^{-8} M) gesteigert. Das gesteigerte Wachstum wird auf einen Anstieg von cyclin-dependent kinase inhibitor p21 Waf1/cip1/sdi1 und Anstieg von Insuline-like growth factor type 1 receptor (IGF-1R) zurückgeführt.

Suzuki et al [99] zeigten in einer Studie mit aus der Lunge stammenden Fibroblasten, eine Inkubationszeitabhängige Hemmung beziehungsweise Stimulation von Eotaxin und Interleukin 4, welche für die Induktion der Fibroblastenproliferation verantwortlich sind. Nach einer Inkubationszeit von 24 h war die IL-4 induzierte Eotaxin-mRNA- expression deutlich inhibiert, während die Eotaxinproduktion 48 und 72 h nach Co-inkubation mit IL-4 und Dexamethason deutlich gesteigert war. Für diesen Mechanismus der später gesteigerten Produktion wird die verlängerte Transkriptionsaktivität des Eotaxingens in Abhängigkeit der SOCS-1(suppressor of cytokine signaling) verantwortlich gemacht.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen für Hydrocortison zeigen ebenfalls ein etwas uneinheitliches Bild. Bei einer Konzentration von 1 mg/ml unterliegen alle Kulturen einer signifikanten Wachstumsinhibition von $77\pm 19\%$. In der Literatur gibt es bisher keine validen Vergleichswerte. In einer Studie der Universität Frankfurt [85] wurden jedoch die Effekte verschiedener Glukokortikoide auf die Fibroblastenproliferation verglichen, und es zeigte sich, dass Hydrocortison das Wachstum weniger stark hemmt als die halogenierten Glukokortikoide wie Betamethason vermögen. Diese Resultate zeigen, dass Halogenisierung und das Einfügen von Doppelbindungen in das Steroidgerüst den Substanzen mehr antiproliferative Potenz verleihen als das eine Veresterung in den Positionen 17 und 21 vermag.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die von uns untersuchten Medikamente, sowohl die bereits in der Therapie der Polyposis nasi angewandten, als auch Substanzen aus alternativen Therapieansätzen in unterschiedlichem Ausmaß inhibitorisch auf die Proliferation der Fibroblasten wirken.

In der Gruppe der Glukokortikoide zeigte die chlorierte Variante Momethason eine deutlich stärkere Inhibition als die nicht halogenierten Glukokortikoide.

Obwohl weder primär antiinflammatorisch noch antiproliferativ, war der inhibitorische Effekt der Substanzen Verapamil, Timolol und Pilocarpin, stark ausgeprägt.

Hierbei muss der Effekt der nicht primär pharmakologisch wirksamen Nebenbestandteile der Medikamente berücksichtigt werden; beispielsweise Ethanol.

Bei den Untersuchungen mit Pilocarpin wird der Einfluss der Konservierungsstoffe deutlich. Der reine Wirkstoff wirkt inhibierend, das in der Praxis verwandte Medikament, auf der Basis von Pilocarpin, wirkt jedoch stimulierend auf das Fibroblastenwachstum.

Die unterschiedlich ausgeprägten Reaktionen der einzelnen Zellkulturen auf ein Medikament lässt sich auf eine mögliche Vorschädigung der Fibroblasten durch präoperative Einnahme von Medikamenten (z.B. Glukokortikoide) durch den Patienten zurückführen.

Mit der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass das Fibroblastenwachstum und damit ein wichtiger Faktor der Polypengese, medikamentös beeinflusst werden kann.

Das Studiendesign ist jedoch nicht geeignet, Fragen nach der nötigen Einflussdauer der Medikamente, nach der Dauer der Wirksamkeit oder synergistischen Effekten der einzelnen Medikamente zu beantworten. Daher ist die klinische Übertragbarkeit unserer Daten limitiert.

Hier sind zweifellos weitere Untersuchungen wünschenswert.

Ebenso bleibt es zukünftigen Untersuchungen vorbehalten, zu prüfen, ob oral oder nasal verabreichte Medikamente, die für die inhibitorische Wirkung nötige Konzentration, an den Fibroblasten erreichen.

6. Zusammenfassung

Polyposis nasi als Symptom einer chronischen Sinusitis ist eine entzündliche, raumfordernde Erkrankung der oberen Atemwege, welche mit einer Häufigkeit von 4% in der Bevölkerung, unabhängig von Geschlecht und Alter, auftritt.

Die gegenwärtigen Therapiemöglichkeiten, sowohl operativ als auch medikamentös, sind trotz guter Wirksamkeit bisher weder für Ärzte noch für Patienten zufriedenstellend, da die Rezidivquote bei 40-90% liegt. Fibroblasten als Bestandteil des bindegewebigen Gerüsts sind für Wachstum und Entstehen der Polypen von großer Bedeutung.

Ihre Anzahl und ihr Metabolismus sind im Vergleich zu normaler Haut gesteigert.

Ziel dieser Arbeit ist es daher, nach alternativen medikamentösen Therapieoptionen zu suchen, die inhibitorisch auf das Wachstum der Fibroblasten wirken.

Wir inkubierten dazu Fibroblasten aus humanen Polypen, mit Medikamenten, die bisher in der HNO nicht eingesetzt werden. Wir verwendeten einen Ca-Kanalblocker (Verapamil), einen β -Rezeptor-Blocker (Timolol), ein Cholinergikum (Pilocarpin), ein Hämorrheologikum (Pentoxifyllin), sowie ein Nichtsteroidales Antirheumatikum (Piroxicam) in steigender Konzentration und verglichen deren Wirkung auf das Fibroblastenwachstum mit der von herkömmlich in der Therapie der polyposis nasi verwendeten Medikamenten.

Die Ergebnisse sollten dazu dienen, den Nutzen möglicher neuer Therapieansätze in Relation zu etablierten Therapien in vitro bewerten zu können, um ggf. Schlußfolgerungen für weitere Untersuchungen zu ermöglichen.

Das Wachstumsverhalten der Fibroblasten ähnelte sich unter Inkubation mit Pilocarpin, Piroxicam, Prednisolon, Pentoxifyllin, Methylprednisolon, Dexametason und Hydrocortison sehr stark. Es kam bei geringen Medikamentenspiegeln zunächst zu einer Wachstumsstimulation und erst bei höheren Wirkstoffkonzentrationen zeigte sich eine Inhibition des Wachstums, wobei die maximale Inhibition bei maximaler Wirkstoffkonzentration lag.

Stärker ausgeprägt war der inhibitorische Effekt bei Verapamil und Momethason. Dabei konnten wir schon bei niedrigen Wirkstoffkonzentrationen eine Wachstumsinhibition erkennen und bei maximalen Konzentrationen sogar eine signifikante Inhibition um 96%.

Der β -Rezeptor-Blocker Timolol zeigte ein ähnliches Inhibitions muster. Bei niedriger Konzentration sahen wir eine geringe Stimulation, konnten jedoch bei maximaler Konzentration eine Inhibition des Wachstums um signifikante 97% feststellen.

Es konnte mit dieser Arbeit gezeigt werden, dass ein wichtiger Faktor der Polypengenes e – das Fibroblastenwachstum – medikamentös, durch Calciumantagonisten, β -Rezeptor-Blocker, und Glukokortikoide beeinflussbar ist.

Das Design der Studie ist jedoch nicht geeignet, die Frage nach der Wirksamkeit der Medikamente in vivo, der Einflussdauer oder synergistischen Effekten zu beantworten. Die Übertragbarkeit unserer Daten in die Klinik ist damit limitiert und weitere Untersuchungen wären zweifellos wünschenswert.

7. Thesen

1. Die Polyposis nasi tritt als raumfordernde Erkrankung der oberen Atemwege mit einer Häufigkeit von 4% der Bevölkerung, unabhängig von Alter, Geschlecht und sozialem Status auf. Sie ist ein Symptom der chronischen Sinusitis.
2. Die Pathogenese der oft multifaktoriell bedingten Polyposis nasi ist bis heute weitgehend unbekannt. Es besteht eine Assoziation mit verschiedenen Atemwegserkrankungen wie der Aspirinsensitivität (52%), Asthma bronchiale (32%) oder der cystischen Fibrose bei Kindern (10%).
3. CD-4 positive Zellen, welche in enger Beziehung zu Mastzellen stehen, sind vermehrt im Stroma, sowie CD-8 positive Zellen in fibrösen Mucosaarealen von Polypen gefunden worden. Für eine gesteigerte IL-1 Produktion, welche bei einer chronischen Entzündung eine wichtige Rolle spielt, sind T-Lymphozyten gemeinsam mit Monozyten verantwortlich. Aufgrund dieser Tatsachen kann die Polyposis als Symptom einer chronischen Sinusitis betrachtet werden.
4. Von grosser Bedeutung für Wachstum und Entstehen der Polypen sind Fibroblasten als Bestandteil des bindegewebigen Gerüsts. Im Vergleich zu normaler Haut weisen sie eine höhere Anzahl sowie einen gesteigerten Metabolismus auf. Es werden vermehrt Zytokine (GM-CSF, M-CSF, G-CSF) von ihnen freigesetzt
5. Nach histologischer Einteilung am häufigsten in der Praxis anzutreffen sind eosinophile (bei 65-90% der Patienten zu finden) und neutrophile (15-20%) Polypen.
6. Die Eosinophilie an sich ist nicht schädlich. In Polypen sind die Eosinophilen jedoch - im Gegensatz zu den Eosinophilen in der Schleimhaut Gesunder – in überwiegend aktivierter Form vorhanden und exprimieren regulatorische und inflammatorische Zytokine (IL-3, IL-5, GM-CSF, TGF). Sie aktivieren so zytokinvermittelt weitere Eosinophile und unterhalten damit einen Circulous Vitiosus der Entzündung.

7. Durch die Freisetzung von Chemokinen wie Eotaxin, GM-CSF (granulocyte/macrophage colony-stimulating factor) und RANTES (regulated and normal T cell expressed and presumably secreted) können Fibroblasten in die Rekrutierung und Aktivierung eosinophiler Granulozyten eingreifen.
8. Bei der Polyposis nasi werden als Ausdruck einer lokal begrenzten Entzündung spezifische IgG und IgE –Antikörper gebildet. Einen erhöhten Spiegel von Mediatoren, welche die Chronizität oder auch die Neigung zu Rezidiven unterstützen könnten, findet man bei Atopikern. Bei Patienten mit Analgetika-Intoleranz ist die Inzidenz der Polyposis besonders hoch : 52% der Aspirin-intoleranten sind betroffen. Es wird jedoch ein unterschiedlicher Pathomechanismus angenommen, da eine höhere Dichte an Eosinophilen und Mastzellen in Polypen von Aspirin-Intoleranten vorherrscht.
9. Aktuell ist die Therapie der Wahl bei der Polyposis nasi, neben der operativen Entfernung der Polypen, eine konservative Therapie mit topischen oder systemischen Steroiden. Da die häufig schwere Entzündungsreaktion gekennzeichnet ist durch den Anstieg von Zytokinen wie RANTES, Eotaxin oder IL-5 sowie eine Eosinophilie, wirken Kortikosteroide hier besonders bemerkenswert.
10. Die Rezidivrate nach Polyposis-Operationen liegt bei 40-90%. Es ist nach Synechien mit sekundären Rezidivsinusitiden zu rechnen sowie mit Vernarbungen des Stirnhöhlenzugangs und Lateralisation der mittleren Muschel. Somit ist die aktuelle Situation unbefriedigend für Patienten und Ärzte.
11. Eine befriedigende effiziente antibiotische Therapie der Polyposis nasi lässt sich nicht nachweisen.
12. Ein wichtiger Faktor der Polypengese – das Fibroblastenwachstum – ist medikamentös, durch alternative Therapiemethoden wie Calciumantagonisten und β -Rezeptor-Blocker, sowie durch Glukokortikoide beeinflussbar.

13. Unter Inkubation mit Pilocarpin, Piroxicam, Prednisolon, Pentoxifyllin, Methylprednisolon, Dexametason und Hydrocortison ähnelte sich das Wachstumsverhalten der Fibroblasten sehr stark. Zunächst kommt es bei geringer Konzentration zu einer Wachstumsstimulation und eine Inhibition des Wachstums zeigt sich erst bei höheren Wirkstoffkonzentrationen, wobei die maximale Wachstumsinhibition bei maximaler Wirkstoffkonzentration auftritt.

14. Verapamil und Momethason wirken schon bei geringen Wirkstoffkonzentrationen inhibitorisch auf das Fibroblastenwachstum.

15. Unter Inkubation mit Timolol als β -Rezeptor-Blocker zeigen Fibroblasten ein ähnliches Wachstumsverhalten wie unter Verapamil und Momethason. Die Wachstumsinhibition unter maximaler Wirkstoffkonzentration ist jedoch ausgeprägter.

16. Alle untersuchten Medikamente, sowohl die bereits in der Therapie der Polyposis nasi angewandten, als auch Substanzen aus alternativen Therapieansätzen, wirken in unterschiedlichem Ausmaß inhibitorisch auf die Proliferation der Fibroblasten.

8. Tabellenanhang

8.1 Timolol

4.2.1 Timolol

Wachstum der Fibroblasten in Abhängigkeit der Wirkstoffkonzentration

Konzentration in mg/ml	Kultur A in %	Kultur B in %	Kultur C in %	Kultur D in %	Kultur E in %	Kultur F in %	Kultur G in %	Kultur H in %	Kultur J in %	arithmetisches Mittel	Standard- abweichung	p vs. Kontrolle (Konzentration 0)
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100			
0.01	108	104	203	65	95	152	103	82	100	112.4	38.8	0.3519
0.03	58	43	261	20	106	84	70	31	99	85.8	67.9	0.5308
0.05	22	9	213	4	82	87	17	2	67	55.9	64.0	0.0553
0.1	2	1	7	1	9	3	1	0	2	2.9	2.9	0.0001

8.2 Pilocarpin

4.2.2 Pilocarpin

Wachstum der Fibroblasten in Abhängigkeit von der Wirkstoffkonzentration

Konzentration in mg/ml	Kultur A in %	Kultur B in %	Kultur C in %	Kultur D in %	Kultur E in %	Kultur G in %	Kultur H in %	Kultur J in %	arithmetisches Mittel	Standard- abweichung	p vs. Kontrolle (Konzentration 0)
0	100	100	100	100	100	100	100	100			
0.01	104	112	145	116	133	98	114	86	113.5	17.6	0.048
0.03	117	114	159	90	167	101	101	91	117.5	27.8	0.0967
0.05	95	92	145	50	109	97	104	78	96.3	25.2	0.6842
0.1	70	47	94	16	57	25	21	59	48.6	25.2	<0.0001
1	4	11	8	4	7	2	3	5	5.5	2.8	<0.0001

8.3 Piroxicam**4.2.3 Piroxicam**

Wachstum der Fibroblasten in Abhängigkeit der Wirkstoffkonzentration

Konzentration in mg/ml	Kultur A in %	Kultur B in %	Kultur C in %	Kultur D in %	Kultur E in %	Kultur G in %	Kultur H in %	Kultur J in %	arithmetisches Mittel	Standard- abweichung	p vs. Kontrolle (Konzentration 0)
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0	
0.01	84	118	107	103	133	108	103	105	107.6	13.0	0.12
0.03	88	123	130	112	183	100	95	99	116.3	28.5	0.12
0.05	81	115	116	92	201	88	68	98	107.4	38.5	0.59
0.1	7	62	86	71	98	81	27	85	64.6	29.7	0.0046
1	4	5	5	10	8	3	2	7	5.5	2.5	<0.0001

8.4 Verapamil**4.2.4 Verapamil**

Wachstum der Fibroblasten in Abhängigkeit von der Wirkstoffkonzentration

Konzentration in mg/ml	Kultur A in %	Kultur B in %	Kultur C in %	Kultur D in %	Kultur E in %	Kultur G in %	Kultur H in %	Kultur J in %	arithmetisches Mittel	Standard- abweichung	p vs. Kontrolle (Konzentration 0)
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0	
0.01	84	59	75	32	77	94	96	102	77.4	21.4	0.0098
0.03	37	70	46	17	39	20	29	38	37.0	15.5	<0.0001
0.05	7	50	47	13	26	4	7	27	22.6	17.0	<0.0001
0.1	3	5	6	9	6	2	2	1	4.3	2.5	<0.0001

8.5 Pentoxifyllin**4.2.5 Pentoxifyllin**

Wachstum der Fibroblasten in Abhängigkeit der Wirkstoffkonzentration

Konzentration in mg/ml	Kultur A in %	Kultur B in %	Kultur C in %	Kultur D in %	Kultur E in %	Kultur G in %	Kultur H in %	Kultur J in %	arithmetisches Mittel	Standardabweichung	p vs. Kontrolle (Konzentration 0)
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0	
0.01	153	162	93	101	76	95	73	101	106.8	31.0	0.5449
0.03	124	158	110	97	111	94	75	108	109.6	22.8	0.2535
0.05	110	182	100	87	132	90	58	110	108.6	34.3	0.4899
0.1	114	88	88	68	99	73	45	106	85.1	21.0	0.0645
1	71	27	14	7	20	5	3	4	18.9	21.3	<0.0001
2	58	12	6	3	11	1	3	3	12.1	17.7	<0.0001

8.6 Prednisolon**4.2.6 Prednisolon**

Wachstum der Fibroblasten in Abhängigkeit von der Wirkstoffkonzentration

Konzentration in mg/ml	Kultur A in %	Kultur B in %	Kultur C in %	Kultur D in %	Kultur I in %	Kultur E in %	Kultur G in %	Kultur F in %	Kultur H in %	Kultur J in %	arithmetisches Mittel	Standardabweichung	p vs. Kontrolle (Konzentration 0)
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100			
0.01	136	123	139	80	113	72	95	148	92	110	110.9	25.9	0.1999
0.03	119	143	140	81	121	97	98	155	90	80	116.0	24.6	0.0545
0.05	109	137	135	82	113	112	88	198	75	65	116.6	35.3	0.1543
0.1	84	119	106	59	113	113	72	191	77	100	103.8	36.7	0.7471
1	39	18	11	5	42	24	5	32	2	4	19.8	14.4	<0.0001
2	4	4	9	3	7	13	3	3	1	1	5.2	3.6	<0.0001

8.7 Methylprednisolon**4.2.7 Methylprednisolon**

Wachstum der Fibroblasten in Abhängigkeit der Wirkstoffkonzentration											Standard- abweichung	p vs. Kontrolle (Konzentration 0)
Konzentration in mg/ml	Kultur A in %	Kultur B in %	Kultur C in %	Kultur D in %	Kultur E in %	Kultur G in %	Kultur F in %	Kultur H in %	Kultur J in %	arithmetisches Mittel		
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100			
0.01	103	68	129	94	180	92	73	104	86	103.2	32.0	0.7814
0.03	92	61	161	132	277	73	109	67	67	115.4	65.4	0.5162
0.05	99	44	138	135	290	50	60	53	45	101.6	75.4	0.953
0.1	9	39	126	132	243	26	44	27	26	74.7	72.9	0.343
1	3	33	7	5	22	1	5	2	3	9.0	10.4	<0.0001

8.8 Dexamethason**4.2.8 Dexamethason**

Wachstum der Fibroblasten in Abhängigkeit von der Wirkstoffkonzentration											Standard- abweichung	p vs. Kontrolle (Konzentration 0)
Konzentration in mg/ml	Kultur A in %	Kultur B in %	Kultur C in %	Kultur D in %	Kultur E in %	Kultur G in %	Kultur F in %	Kultur H in %	Kultur J in %	arithmetisches Mittel		
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100			
0.01	68	131	104	97	197	84	62	146	90	108.8	40.3	0.5217
0.03	89	152	113	100	259	76	56	130	177	128.0	58.3	0.1689
0.05	131	143	127	91	212	62	46	132	75	113.2	47.8	0.4196
0.1	125	98	75	66	245	46	31	75	42	89.2	61.5	0.6055
0.2	103	39	28	35	62	24	7	28	38	40.4	26.1	<0.0001

8.9 Hydrocortison**4.2.9 Hydrocortison**

Wachstum der Fibroblasten in Abhängigkeit von der Wirkstoffkonzentration											
Konzentration in mg/ml	Kultur A in %	Kultur C in %	Kultur D in %	Kultur E in %	Kultur G in %	Kultur F in %	Kultur H in %	Kultur J in %	arithmetisches Mittel	Standardabweichung	p vs. Kontrolle (Konzentration 0)
0	100	100	100	100	100	100	100	100			
0.01	97	131	87	107	86	103	105	88	100.5	14.0	0.921
0.03	106	130	76	166	78	155	95	60	108.3	36.2	0.5272
0.05	123	123	82	171	68	147	85	53	106.5	38.3	0.6386
0.1	88	117	48	48	63	123	83	50	77.5	28.5	0.0424
1	61	45	20	21	5	28	2	7	23.6	19.3	<0.0001
1.5	91	68	39	14	2	6	1	4	28.1	32.3	<0.0001

8.10 Momethason**4.2.10 Momethason**

Wachstum der Fibroblasten in Abhängigkeit von der Wirkstoffkonzentration											
Konzentration in mg/ml	Kultur A in %	Kultur B in %	Kultur C in %	Kultur D in %	Kultur E in %	Kultur G in %	Kultur H in %	Kultur J in %	arithmetisches Mittel	Standardabweichung	p vs. Kontrolle (Konzentration 0)
0	100	100	100	100	100	100	100	100			
0.01	67	68	91	58	95	57	53	58	68.4	15.0	<0.0001
0.03	43	58	61	55	54	75	76	66	61.0	10.4	<0.0001
0.05	33	15	149	9	107	12	17	33	46.9	48.7	0.0081

8.11 Gesamtübersicht des durchschnittlichen Wachstums der Fibroblasten bei Verwendung unterschiedlich hoher Konzentrationen verschiedener Medikamente

Gesamtübersicht des durchschnittlichen Wachstums der Fibroblasten bei Verwendung unterschiedlich hoher Konzentrationen verschiedener Medikamente

Konzentration en in mg/ml	Timolol (10)	Pilocarpin (6)	Piroxicam (8)	Verapamil (4)	Pentoxifyllin (2)	Prednisolon (1)	Methylpred- nisolon (7)	Dexamethason (3)	Hydrocortis on (5)	Momethason (9)
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
0.01	112.4	113.6	107.7	77.3	106.8	110.9	103.2	108.8	100.6	68.3
0.03	85.8	117.6	116.2	37.0	109.6	116.0	115.4	128.0	108.6	61.0
0.05	55.9	96.2	107.3	22.7	108.6	116.6	101.6	113.2	106.4	46.9
0.1	2.9	48.7	64.7	4.2	85.1	103.8	74.7	89.2	77.6	
0.2								40.4		
1		5.4	5.6		18.8	19.8	9.0		23.7	
1.5									28.1	
2					12.1	5.2				

9. Literaturverzeichnis

- [1] Kirsch JP, White JA.: Nasal polyposis. 1990, J La state Med Soc 142: 11–14.
- [2] Bachert C, Hörmann K, Mörges R, Rasp G, Riechelmann H, Müller R, Luckhaupt H, Stuck B.A, Rudack C.: Empfehlungen zur Diagnose und Therapie der Sinusitis und Polyposis nasi. 2003, Allergologie Jahrgang 26, 52-71
- [3] Riede, Schäfer: Allgemeine und spezielle Pathologie. 2001, 4. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 590-594
- [4] Stammberger H, Mösgens R.H, Schlörhof G (Hrsg), Biermann, Zülrich: Zur chirurgischen Therapie der Polyposis nasi. Die Folgen der Allergie – Rhinitis, Asthma, Polyposis nasi. 1996, 60-76
- [5] Larsen PL, Tingsgaard PK, Harcourt J, Sofsrund G, Tos M.: Nasal polyps and their relation to polyps/hypertrophic polypoid mucosa in the paranasal sinuses: a macro-, endo-, and mikroskopie study of autopsy materials. 1994, Am J. Rhinol. 12, 45-51
- [6] Stammberger H, Posawetz W.: Functional endoscopic sinus surgery. Concept, indications and results of the Messerklinger technique. 1990, Eur. Arch. Othorhinolaryngo 247, 63-76.
- [7] Rudack C.: Untersuchungen zum Entzündungsgeschehen in Nasenpolypen. Laryngo-Rhino-Otol 2002, 81 Georg Thieme Verlag, Stuttgart: 659-660.
- [8] Waller G, Weidenbecher M, Pesch H.-J, Baenkler H.: Vergleichende klinische, histomorphologische und immunologische Untersuchungen zur Ätiologie der Polyposis nasi et sinuum. 1976, Laryng. Rhinol. 55 Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 174-178,
- [9] Berghaus A, Rettinger G, Böhme G.: Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde 1996; Hippokratesverlag Verlag, Stuttgart, 323-327
- [10] Coste A, Rateau J.G, Roudot-Thoraval F, Chapelin C, Gilain L; Poron F, Peynegre R, Bernaudin J.F, Escudier E.: Increased epithelial cell proliferation in nasal polyps. 1996, Arch. Otolaryngol.Head Neck Surg. 122, 432-436
- [11] Hellquist H.B.: Nasal polyp update. 1996, Histopathology Allergy Asthma Proc.17. 237-242
- [12] Nonaka M, Pawankar R, Saji F, Yagi T.: Distinct expression of RANTES and GM-CSF by lipopolysaccharide in human nasal fibroblasts but not in other airway fibroblasts. 1999, Int Arch Allergy Immunol. Aug; 119(4), 314-21

- [13] Nonaka M, Pawankar R, Saji F, Yagi T.: Eotaxin synthesis by nasal polyp fibroblasts. 1999, *Acta Otolaryngol.*;119(7): 816-20
- [14] Weber A, Schröder UH, May A, von Ilberg C, Fromter E.: Chloride conduction of nasal fibroblasts in polyposis patients with cystic fibrosis and in patients without cystic fibrosis. Relevance for the ENT physician 1997, *HNO* 45:695–701
- [15] Larsen PL, Tos M, Kuijpers W, van der Beek JM.: The early stages of polyp formation. 1992, *Laryngoscope*; 102:670-7
- [16] Nakagawa T, Yamane H, Nakai Y, Shigeta T, Takashima T, Takeda Z.: Comparative assessment of cell proliferation and accumulation of extracellular matrix in nasal polyps. 1998, *Acta Otolaryngol Suppl*; 538:205-8
- [17] Desreumaux P, Janin A, Dubucqui S, Copin M.C, Torpier G, Capron A, Capron M, Prin L.: Synthesis of interleukin-5 by activated eosinophils in patients with eosinophilic heart disease. 1993, *Blood* 82 (5):1553-1560
- [18] Rudack C, Hauser U, Stoll W.: Einfluß von Zytokinen und Fibroblasten auf die Überlebenszeit eosinophiler Granulozyten bei der Polyposis nasi. 1999, *Laryngo-Rhino-Otologie*;78:378-81
- [19] Bernstein J.M.: The molecular biology of nasal polyposis. 2001, *Current Allergy and Asthma Reports*, 1:262-267
- [20] Umbach B, Hennebach U.: Veränderungen im Bindegewebsmetabolismus von Fibroblasten aus Nasenpolypen. 1994, *HNO*;42:344-9
- [21] Rudack C, Prehm P, Stoll W, Maune S.: Extracellular Matrix Components in Nasal Polyposis. 2003, *Acta Otolaryngol* 123;643-647
- [22] Ruby, Pawankar: Nasal Polyposis: an update. 2003, *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 3; 1-6
- [23] Di Lorenzo G, Drago A, Esposito Pellitteri M, et al.: Measurement of inflammatory mediators of mast cells and eosinophiles in native nasal lavage fluid in nasal polyposis. 2001, *Int Arch Allergy Immunol*; 125:164-175
- [24] Reiss M.: Current aspects of diagnosis and therapy of nasal polyposis. 2001, *Dec Presse Med.* 22-29; 30(39-40 Pt 2):44-50
- [25] Hosemann W.: Postoperative Rezidivprophylaxe bei chronischer Pansinusitis und Polyposis nasi. 2003, *HNO* 51:279-283
- [26] Delank K.W, Stoll W.: Sense of smell before and after endonasal surgery in chronic sinusitis with polyps. 1997, *HNO* 42, 619-623

- [27] Oliverio P.J, Benson M.L, Zinreich S.J.: Update on imaging for functional endoscopic sinus surgery. 1995, *Otolaryngol. Clin. North Am.* 28, 585-608
- [28] Rasp G, Thomas P.A, Buija J.: Eosinophil inflammation of the nasal mucosa in allergic and non-allergic rhinitis measured by eosinophile cationic protein levels in native nasal fluid and serum. 1994, *Clin. Exp. Allergy* 24, 1151-1156
- [29] Marianowski R, Forcioli J, Bouhnik M, Ait Amer J.L, Brunelle F, Manach Y.: Intracranial complications of ethmoiditis evidenced by magnetic resonance imaging. 2001, *Ann Otol. Laryngol* 110, 592-595
- [30] Abuhammour W.M, Abdel-Haq, N.M., Asmar B.I, Dajani A.S.: *Moraxella catarrhalis* bacteraemia: a 10-yers experience. 1999, *South Med. J.* 92, 1071-1074 ()
- [31] Hosemann W.: Regensburg; Die endonasale Chirurgie der Nebenhöhlen – Erläuterungen zum Referat
- [32] Marek L, Kowalski M.D, Ph. D.: Nasal Polyps and Aspirin intolerance –
- [33] Picado C, Fernandez-Morata JC, Juan M, Roca Ferrer J, Fuentes M, Xaubet A, Mullo J.: Cylooxygenase is down-expressed in nasal polyps from aspirin-sensitive asthmatics. 1999, *Am J Respir Crit Care Med*; 160:291-96
- [34] Kennedy D.W.: Prognostik factors, outcomes and standing in ethmoid sinus surgery. 1992, *Laryngoskope* 102 (Suppl.57), 1-18
- [35] Lund V.J, Holmstrom M, Scadding G.K.: Functional endoscopic sinus surgery in the management of chronic rhinosinusitis. An objective assessment. 1991, *J. Laryngol. Otol.* 105, 832-835
- [36] Lund V.J, Scadding G.K.: Objective assessment of endoscopic sinus surgery in the management of chronic rhinosinusitis: an update. 1994, *J. Laryngol. Otol.* 108, 749-753
- [37] Benammar-Englmaier M, Hallermeier J.K, Englmaier B.: a-mimetic effects on nasal mucosa in magnetic resonance tomography. 1990, *Digitale Bilddiagn.* 10, 46-50 ().
- [38] Golusinski W, Szmeja Z, Szyfter W, Kruk-Zagajewska A, Mielcarak-Kuchta D, Laezkowska-Przybylska J.: The use of mucolytic (*Mucosalvan*) in nasal and paranasal sinuses in children, 1996, *Otolaryngol.Pol.*50,599-606
- [39] Bachert C, Gevaert: Effect of intranasal corticosteroids on release of cytokines and inflammatory mediators. 1999, *Allergy* 54(supp. 57), 116-123
- [40] Rudak C, Stoll W, Bachert C.: cytokines in nasal polyposis, acute and chronic sinusitis. 1998, *Am. J. Rhinol* 12,383-388

- [41] Rudack C., Stoll W., Bachert C.: Effect of prednisolone on cytokine synthesis in nasal polyps. 1999, J. Interferon Cytokin Res. 19, 1031-1035
- [42] Hartwig S., Linden M., Laurent C, Vargoe A.K., Lindquist N.: Budesonide nasal spray as prophylactic treatment after polypectomy (a double-blind clinical trial). 1988, J. Laryngol. Otol. 102, 148-151
- [43] Karlsson G., Runderantz H., A randomized trial in intranasal beclomethasone dipropionate after polypectomy. 1982, Rhinology 20, 144-148
- [44] Renval U. Lindquist : A double-blind clinical study with Monydrin tablet in patients with non-allergic chronic rhinitis. 1979, J.Int. Med. Res. 7, 235-292
- [45] Nadel D.M., Lanza D.C., Kennedy D.W.: Endoscopically guided cultures in chronic sinusitis. 1998, Am J. Rhinol. 12, 233-241
- [46] Otten F.W., Grote J.J.: Treatment of chronic maxillary sinusitis in children. 1988, Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol. 15,269-278
- [47] Legent F., Bordure P., Beauvillian C., Berche P.: A double-blind comparison of ciprofloxacin and amoxicillin/clavulanic acid in the treatment of chronic sinusitis. 1994, Chemotherapy 40 (Suppl. 1) 8-15
- [48] Gomez-Barreto D., de la Torre C., Alvarez A., Faure A., BerberA.: Safety and efficacy of OM-85-BV plus amoxicillin/clavulanate in the treatment of subacute sinusitis and prevention of recurrent infections in children. 1998, Allergol. Immunopathol. (Madr.) 26, 17-22.
- [49] Schlenter W.W., Blessing R., Heintz B.: Zur konservativen Therapie der chronischen Sinusitis, Erfolge einer Bakterienlysat-Therapie. 1989, Laryngo-rhinootologie 68, 671-64
- [50] Zagar S.J., Lofler-Badzek D.: Broncho-Vaxom in children with rhinosinusitis; a double –blind clinical trial. 1988, ORL J. Otorhinolaryngol. Rel. Spec. 50, 397-404
- [51] Kang Y.,Lee D.A., Higgingbotham E.J.: In vitro evaluation of antiproliferative potential of calcium channel blockers in human Tenon`s fibroblasts. 1997, Exp Eye Res. Jun; 64(6): 913-25
- [52] Panet R., Marcus M., Atlan H.: Overexpression of the Na(+)/K(+)/Cl(-) cotransporter gene induces cell proliferation and phenotypic transformation in mouse fibroblasts. 2000 Jan, J. Cell Physiol; 182(1): 109-18
- [53] Williams DE., Nguyen KD., Shapourifar-Tehrani S, Kitada S, Lee DA.: Effects of timolol, betaxolol, and levobunolol on human tenon's fibroblasts in tissue culture. 1992,

Jules Stein Eye Institute, UCLA School of Medicine 90024-7004, Invest Ophthalmol Vis Sci.;33: 2233-2241.

[54] Hussain SS, Al-Dakan AA, Aboul-Enein HY, Hannan MA.: DNA strand breaks and mutations caused by penbutolol, a beta blocker. 1988, Mutat Res.;204: 675-82.

[55] Cunliffe IA, McIntyre CA, Rees RC, Rennie IG: The effect of topical cholinergic medications on human Tenon's capsule fibroblasts in tissue culture. 1995, Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol; 233: 507-512

[56] Nguyen KD, Lee DA.: In vitro evaluation of antiproliferative potential of topical cyclooxygenase inhibitors in human Tenon's fibroblasts. 1993, Exp Eye Res.;57:97-105.

[57] Strutz F, Heeg M, Kochsiek T, Siemers G, Zeisberg M, Muller GA.: Effects of pentoxifylline, pentifylline and gamma-interferon on proliferation, differentiation, and matrix synthesis of human renal fibroblasts. 2000, Nephrol Dial Transplant.;15: 1535-1546.

[58] Karow T., Lang-Roth R., Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie 2005, Karow T. Pulheim

[59] Wach F, Bosserhoff A, Kurzidym U, Nowok K, Landthaler M, Hein R.: Effects of mometasone furoate on human keratinocytes and fibroblasts in vitro. 1998 Jan-Feb, Skin Pharmacol Appl Skin Physiol.;11(1): 43-51

[60] Nguyen KD, Lee DA.: Effect of steroids and nonsteroidal antiinflammatory agents on human ocular fibroblast. 1992 Aug, Invest Ophthalmol Vis Sci; 33(9): 2693-701

[61] Nadel DM, Lanza DC, Kennedy DW: Endoscopically guided cultures in chronic sinusitis. 1998, Am J Rhinol; 12: 233-241

[62] Nadel DM, Lanza DC, Kennedy DW: Endoscopically guided sinus cultures in normal subjects. 1999, Am J Rhinol;13: 87-90

[63] Benninger MS, Schmidt JL, Crissman JD, Gottlieb C: Mucociliary function following sinus mucosal regeneration. 1991, Otolaryngol Head Neck Surg 105: 641-648

[64] Hosemann W, Wigand ME, Göde U, Länger F, Dunker I: Normal wound healing of the paranasal sinuses - clinical and experimental investigations. 1991, Eur Arch Otorhinolaryngol 248: 390-394

[65] Shaw CK, Cowin A, Wormald PJ: A study of the normal temporal healing pattern and the mucociliary transport after endoscopic partial and full-thickness removal of nasal mucoas in sheep. 2001, Immunology and Cell Biology 79: 145-148

- [66] Hosemann W, Wigand ME, Fehle R, Sebastian J, Diepgen DL: Ergebnisse endonasaler Siebbein-Operationen bei diffuser hyperplastischer Sinusitis paranasalis chronica. 1988, HNO 36: 54-59
- [67] Fortune DS, Duncavage JA: Incidence of frontal sinusitis following partial middle turbinectomy. 1998, Ann Otol Rhinol Laryngol 107: 447-453
- [68] Hosemann W, Schwab N, Praetner L, Breme K, Beule A, Kaftan H: Erweiterte Ergebnisanalyse der endonasalen Nasennebenhöhlenchirurgie. 2002, Laryngo-Rhino-Otol 2003
- [69] Hosemann W, Schindler E, Wiegrebe E, Göpferich A: Innovative frontal sinus stent acting as local drug-releasing system. 2002, Eur Archives of Oto-Rhino-Laryngology 2003
- [70] Hosemann W, Weber RK, Keerl RE, Lund VJ: Minimally invasive endonasal sinus surgery. 2000, Thieme Verlag Stuttgart
- [71] Juergens UR, Stöber M, Vetter H: Steroidartige Hemmung des monozytären Arachidonsäuremetabolismus und der IL-1 β -Produktion durch 1.8-Cineol. 1998, Atemw.-Lungenkrkh 24: 3-11
- [72] Grundmann T, Töpfer M: Leukotrienrezeptorantagonisten zur Rezidivprophylaxe bei der ASS-assoziierten Polyposis – erste klinische Ergebnisse zur Wirkung auf entzündliche Gewebeprozesse. 2001, Laryngo-Rhino-Otol 80: 576-582
- [73] Ragab S, Parikh A, Darby YC, Scadding GK: An open audit of montelukast, a leukotriene receptor antagonist, in nasal polyposis associated with asthma. 2001, Clin Exp Allergy 31: 1385-1391
- [74] Wilson AM, White PS, Gardiner Q, Nassif R, Lipworth BJ: Effects of leukotriene receptor antagonist therapy in patients with chronic rhinosinusitis in a real life rhinology clinic setting. 2001, Rhinology 39: 142-146
- [75] Annys E, Jorissen M: Short term effects of antibiotics (Zinnat) after endoscopic sinus surgery. 2000, Acta Otolaryngol Belg 54: 23-28
- [76] Anderson MS, Shankey TV, Lubrano T, Mulhall JP: Inhibition of Peyronie's plaque fibroblast proliferation by biologic agents. 2000, Int J Impot Res;12: Suppl 3, 25-31
- [78] Zeitler H, Ko Y, Glodny B, Totzke G, Appenheimer M, Sachinidis A, Vetter H.: Cell-cycle arrest in G0/G1 phase of growth factor-induced endothelial cell proliferation by various calcium channel blockers. 1997, Cancer Detect Prev.;21: 332-339

- [79] Lange K, Kleuser B, Gysler A, Bader M, Maia C, Scheidereit C, Korting HC, Schafer-Korting M.; Cutaneous inflammation and proliferation in vitro: differential effects and mode of action of topical glucocorticoids; *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 2000;13:93-103
- [80] Muhlberg T, Joba W, Spitzweg C, Schworm HD, Heberling HJ, Heufelder AE.; Interleukin-1 receptor antagonist ribonucleic acid and protein expression by cultured Graves' and normal orbital fibroblasts is differentially modulated by dexamethasone and irradiation; *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:734-742
- [81] Rudack C, Bachert C, Stoll W. Effect of prednisolone on cytokine synthesis in nasal polyps. ; *J Interferon Cytokine Res.* 1999 Sep;19(9):1031-5.
- [82] Sun R, Gimbel HV, Liu S, Guo D, Hollenberg MD.: Effect of diclofenac sodium and dexamethasone on cultured human Tenon's capsule fibroblasts; *Ophthalmic Surg Lasers* 1999;5:382-388.
- [83] Li S, Mawal-Dewan M, Cristofalo VJ, Sell C.: Enhanced proliferation of human fibroblasts, in the presence of dexamethasone, is accompanied by changes in p21Waf1/Cip1/Sdi1 and the insulin-like growth factor type 1 receptor; *J Cell Physiol* 1998;177:396-401
- [84] Albrecht M, Janssen M, Konrad L, Renneberg H, Aumuller G.; Effects of dexamethasone on proliferation of and fibronectin synthesis by human primary prostatic stromal cells in vitro. *Andrologia* 2002;34:11-21
- [85] Gormar FE, Bernd A, Holzmann H.: The effect of hydrocortisone aceponate on proliferation, total protein synthesis and collagen synthesis in human skin fibroblasts in vitro *Arzneimittelforschung* 1990;40:192-196
- [86] Wu KY, Hong SJ, Wang HZ.: Effects of pilocarpine and other antiglaucoma drugs on cultured human Tenon's fibroblast cells. *J Ocul Pharmacol Ther.* 1997;13:13-21.
- [87] Hewitson TD, Martic M, Kelynack KJ, Pedagogos E, Becker GJ.; Pentoxifylline reduces in vitro renal myofibroblast proliferation and collagen secretion.; *Am J Nephrol.* 2000;20:82-88
- [88] Sánchez T, Moreno JJ; Ketoprofen S(+) enantiomer inhibits prostaglandin production and cell growth in 3T6 fibroblast cultures.; *Eur J Pharmacol.* 1999 Apr 1;370(1):63-7.
- [89] Chidiac P, Hebert TE, Valiquette M, Dennis M, Bouvier M.: Inverse agonist activity of beta-adrenergic antagonists. *Mol Pharmacol.* 1994;45:490-499

- [90] Haack D. 2001 Physikalische und chemische Veränderungen in Festen Dispersionen: Einfluss von Hydrophilen Polymeren auf die Stabilität von Piroxicam. Dissertation Universität Hamburg
- [91] McEvoy GK, AHFS Drug Information, American Society of Hospital Pharmacists Inc, Bethesda (USA); 2363 pp, 1992
- [92] O'Neil MJ, Smith A, Heckelman PE, Obenchain JR, Gallipeau JAR & D'Arecca MA: The Merck Index.; Merck & Co Inc, Whitehouse Station, NJ (USA); 2562 pp, 2001
- [93] Plumb DC; Veterinary Drug Handbook; PharmaVet Publishing, White Bear Lake (USA); 853 pp, 1999
- [94] Plumb DC; Veterinary Drug Handbook.; PharmaVet Publishing, White Bear Lake, Minnesota, 4. Edition: 960 pp, 2002
- [95] Windholz M, Budavari S, Blumetti RF & Otterbein ES: The Merck Index. Merck & Co Inc, Rahway (USA); 2194 pp, 1983
- [96] Rawlins JM, Lam WL, Karoo RO, Naylor IL, Sharpe DT. Pentoxifylline inhibits mature burn scar fibroblasts in culture; 2006 Feb;32(1):42-5. Epub 2005 Dec 27.
- [97] Berman B, Duncan MR. Pentoxifylline inhibits normal human dermal fibroblast in vitro proliferation, collagen, glycosaminoglycan, and fibronectin production, and increases collagenase activity. J Invest Dermatol. 1989 Apr;92(4):605-10.
- [98] Furze A, Kralick D, Vakharia A, Jaben K, Graves R, Adil E, Eshraghi AA, Balkany TJ, Van de Water TR; Dexamethasone and methylprednisolone do not inhibit neuritic outgrowth while inhibiting outgrowth of fibroblasts from spiral ganglion explants. Acta Otolaryngol. 2007 Aug 22;1-6. [Epub ahead of print]
- [99] Suzuki T, Arakawa H, Mizuno T, Muramatsu K, Tadaki H, Takizawa T, Mochizuki H, Tokuyama K, Matsukura S, Morikawa A; Differential regulation of eotaxin expression by dexamethasone in normal human lung fibroblasts. Am J Respir Cell Mol Biol. 2008 Jun;38(6):707-14. Epub 2008 Jan 18.
- [100] Dr. Müschenborn S, Reinhardt D; Wirkungsmechanismus und Wirksamkeit von Bakterienlysaten, Monatsschrift Kinderheilkunde 2000 · 148:54, Springer-Verlag 2000
- [101] Cunliffe IA, McIntyre CA, Rees RC, Rennie IG; The effect of topical cholinergic medications on human Tenon's capsule fibroblasts in tissue culture. Ger J Ophthalmol 1995 May; 4(3):167-74

10. Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst und andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht verwendet habe. Die den benutzten Werken wörtlich und inhaltlich entnommenen Stellen habe ich als solche kenntlich gemacht.

Zürich, den 06.09.2011

11. Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. habil B. Kramp, dem Stellvertretenden Klinikleiter, für die Überlassung des Themas und für die Möglichkeit, in der Klinik und Poliklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Kopf- und Halschirurgie "Otto Körner" meine Dissertation anfertigen zu dürfen

Weiterhin danke ich Dr. rer. nat. J. Ostwald für die unermüdlich mögliche, freundliche Betreuung und Unterstützung, und für all die Zeit, die er sich immer wieder für mich genommen hat.

Ich möchte mich ebenfalls bei der Universitäts-Hals-Nasen-Ohren-Klinik für die Bereitstellung der Geräte und Materialien sowie die Finanzierung der Studie bedanken.

Mein Dank gilt außerdem den Mitarbeitern des Forschungszentrums in der Schillingallee für die Hilfe bei der Auswertung und Messung der thymidinmarkierten Proben.

Ich danke außerdem meinen Eltern und Großeltern sowie meinem Bruder für ihre Liebe, ihre Unterstützung und für die Ermöglichung des Studiums sowie die Motivation für die vorliegende Arbeit.

Des Weiteren danke ich meinen Freunden und Kommilitonen und ganz besonders Ann-Kathrin, die mit Rat, Geduld und einem offenen Ohr diese Studie mitgetragen haben.

12. Lebenslauf

Name : Simone Maria Kolloczek
Geboren am : 29.10.1974
Familienstand : ledig
Staatsangehörigkeit : deutsch

Schulausbildung

08/1981 – 06/1994 : Grundschule und Gymnasium Hamburg
Abitur am 29. Juni 1994

Berufsausbildung

04/1995 – 04/1998 : Ausbildung zur Kinderkrankenschwester,
Universitätskinderklinik Eppendorf, Hamburg
Staatsexamen am 23. März 1998

08/2005 – 07/2007 : Assistenzärztin Chirurgie Stadtspital Triemli Zürich, Schweiz

08/2007 – 07/2009 : Assistenzärztin Chirurgie Spital Linth Uznach, Schweiz

10/2009 – 05/2012 : Assistenzärztin Chirurgie Stadtspital Triemli Zürich, Schweiz

07/2012 – jetzt : Oberärztin Chirurgie Spital Bülach, Schweiz

Hochschulausbildung

10/1998 – 05/2005 : Studium der Humanmedizin,
Universität Rostock
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
3. Staatsexamen am 10. Mai 2005
Approbation als Ärztin am 12. Mai 2005

seit 10/2003 : Experimentelle Doktorarbeit in der Hals-Nasen-
Ohrenheilkunde
Universität Rostock
Thema: „Inhibitorische Wirkung ausgesuchter
Pharmaka auf das Wachstum von Fibroblasten der
Nasenschleimhaut“.

Praktische Erfahrung

- 04/1998 - 10/1998 : Kinderkrankenschwester Kinder-Intensivstation,
Universitätskinderklinik Eppendorf, Hamburg
- 02/2001 : Famulatur Hals-Nasen-Ohrenheilkunde,
Universitätsklinik Rostock
- 11/2001 – 08/2004 : Nachtwachen als Kinderkrankenschwester,
Station für kardiologisch/urologisch erkrankte Kinder
Kinderkrankenhaus der Universitätskliniken Mainz,
- 04/2002 : Famulatur Hals-Nasen-Ohrenheilkunde
St. Hildegardis-Krankenhaus, Mainz
- 08/2002 : Famulatur Neurologie,
Neurologisches Krankenhaus Rosenhügel,
Wien, Österreich
- 09/2002 : Famulatur Pädiatrie,
Krankenhaus Wilhelmstift, Hamburg
- 04/2004 – 08/2004 : 1. Tertial des Praktischen Jahres,
Victoria Hospital Cape Town, Department of Medicine,
Kapstadt, Südafrika
- 08/2004 – 12/2004 : 2. Tertial des Praktischen Jahres,
Stadtspital Triemli, Klinik für Chirurgie, Zürich, Schweiz
- 12/2004 – 03/2005 : 3. Tertial des Praktischen Jahres,
Horst-Schmidt-Kliniken, Klinik für Kinder und Jugendliche,
Wiesbaden

Sonstige Kenntnisse

- Klinische Weiterbildung: ATLS 9/2006
Basisexamen Chirurgie 11/2007
AO-Kurs Davos 12/2007
International Gastroenterological Surgical Workshop Davos
2/2008
Handchirurgie Kurs Wien 05/2010
- Sprachen : Deutsch, Englisch, sicher in Schrift und Sprache
Französisch, Grundlagen